



**Universidade de Aveiro** Departamento de Biologia  
Ano 2009

**SÓNIA MARGARIDA ANDRADE E SANTOS**    **UM OLHAR SOBRE A POLUIÇÃO E DEGRADAÇÃO DOS RECURSOS**



**SÓNIA MARGARIDA  
ANDRADE E SANTOS**

**UM OLHAR SOBRE A POLUIÇÃO E DEGRADAÇÃO  
DOS RECURSOS**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de mestre em Toxicologia e Ecotoxicologia, realizada sob a orientação do Doutor Amadeu Soares, professor catedrático do departamento de Biologia da Universidade de Aveiro.

## Agradecimentos:

Apresento os melhores cumprimentos a Raquel Agra por todo o seu apoio ao longo da preparação deste trabalho.

**O júri:**

Presidente: António José Arsénia Nogueira, Prof. Associado c/ Agregação,  
Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Orientador: Amadeu Mortágua Velho da Maia Soares, Prof. Catedrático,  
Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Arguente Principal: Isabel Maria Cunha Antunes Lopes, Investigadora Auxiliar,  
CESAM – Centro de Estudos do Ambiente e do Mar,  
Universidade de Aveiro

Vogal: Susana Patrícia Mendes Loureiro, Investigadora Auxiliar,  
CESAM - Centro de Estudos do Ambiente e do Mar, Universidade  
de Aveiro

**Palavras-chave**

Ecotoxicologia, ensino experimental das ciências

**Resumo**

No sentido de enriquecer a componente prática dos programas do ensino das ciências, propôs-se um conjunto de actividades laboratoriais que exploram os conceitos associados à Ecotoxicologia, já abordados nos programas propostos pelo Ministério da Educação. Paralelamente foi criado um manual teórico de apoio e motivação que aborda a problemática da poluição e degradação dos recursos naturais.

O trabalho dividiu-se em três componentes: a parte teórica, a parte experimental e um manual como elemento de apoio ao ensino experimental das ciências. A parte teórica evidencia a abordagem feita à ciência da Ecotoxicologia nos conteúdos programáticos do ensino das ciências, descreve sumariamente a ciência da Ecotoxicologia e aborda a importância da componente experimental no ensino das ciências.

A parte prática propõe um conjunto de trabalhos experimentais adaptados aos conceitos teóricos relacionados com a ciência da Ecotoxicologia, que são explorados nos programas de ensino das ciências.

O manual de apoio aborda os principais problemas ambientais actualmente existentes, relacionados com os ecossistemas, com os recursos naturais existentes na Terra, com a interacção da população humana com o meio ambiente. Faz uma breve descrição sobre poluição e a sua gestão, introduzindo conceitos sobre a ciência da Ecotoxicologia. Dada a importância da componente experimental do ensino das ciências, e porque a interligação da ciência, tecnologia e sociedade é a base para a construção de um futuro mais sustentável, espera-se que este trabalho venha de encontro às necessidades do ensino experimental das ciências.

**Keywords**

Ecotoxicology, experimental laboratories in science education

**Abstract**

To enhance practical science education, it was proposed a set of science labs that explore the concepts associated to Ecotoxicology, already addressed in the science educational programs from the Ministry of Education.

Simultaneously it was created an handbook to support and motivate the users to the problematic of pollution and the devastation of natural resources.

This work was divided into three components: theoretical, practical and a handbook.

The theoretical component of the work reinforces the approach made to the science of Ecotoxicology within the science education contents, makes a brief description about the evolution of Ecotoxicology and focus on the importance of the laboratories in the education of science. The practical component proposes a set of laboratories related to the Ecotoxicology contents that are exploited in the science education programs.

The handbook addresses the main existing environmental problems on Earth, and the interaction of human population with the environment. It makes also a brief description about pollution and its management and introduces several concepts of Ecotoxicology.

Given the importance of experimental skills in science education, and because the connection among science, technology and society is the basis for the construction of a sustainable future, it is expected that this work meets the needs of practical laboratories on science education.

## ÍNDICE:

1. Introdução .....	10
2. Objectivos.....	11
3. Abordagem à Ecotoxicologia dos programas de ensino das ciências .....	11
4. Importância da ciência Ecotoxicologia na tecnologia e sociedade .....	12
5. A importância do ensino experimental das ciências.....	19
6. Conteúdos práticos abordados no programa .....	22
7. Trabalhos práticos propostos .....	23
7.1 Trabalho número 1 .....	24
7.2 Trabalho número 2 .....	30
7.3 Trabalho número 3 .....	34
7.4 Trabalho número 4 .....	38
7.5 Trabalho número 5 .....	44
7.6 Trabalho número 6 .....	48
7.7 Onde procurar materiais para a realização das experiências .....	54
8. Conclusões gerais .....	55
9. Referências .....	56
10. Anexos .....	59

## Lista de Figuras:

Fig. 1 Medição das plantas com régua no trabalho 1 .....	25
Fig. 2 Aspecto da experiência 1 .....	25
Fig. 3 Aspecto da experiência 2 .....	28
Fig. 4 Aplicação do contaminante com pincel - trabalho 2 .....	28
Fig. 5 Preparação do solo não contaminado - Trabalho 3.....	31
Fig.6 Preparação do solo contaminado - Trabalho 3.....	31
Fig. 7 Aplicação do contaminante – trabalho 3.....	32
Fig. 8 Aspecto da experiência antes de introdução dos vermes Trabalho 3 .....	32
Fig. 9 Aspecto final do trabalho 3 .....	32
Fig. 10 - Captura de macroinvertebrados num curso de água .....	36
Fig. 11 - Embalamento e transporte dos macroinvertebrados para o laboratório..	36
Fig. 12 - Separação dos macroinvertebrados no laboratório – trabalho 4.....	36
Fig. 13 - Identificação dos macroinvertebrados.....	37
Fig. 14 - Aspecto geral do trabalho prático número 5.....	39
Fig. 16 - Cor observada para o detergente (det), fertilizante (fert) e controlo (ctrl)	43
Fig 17 - Químico B; à esquerda; e Químico A.....	45
Fig. 18 - Adição de água e óleo a ambos os copos - trabalho 7.....	45
Fig. 19 - Adição de químico A ao copo 1 e de químico B ao copo 2 .....	46
Fig. 20 - Aspecto dos copos depois da agitação dos químicos .....	46
Fig. 21 - Aspecto dos copos depois de se retirar a camada aquosa de cada copo .....	47
Fig. 22 - O copo 2 recebe uma dáfnia porque está poluído .....	47
Fig. 23 - Copos depois de novamente agitados após receberem mais uma porção de cada um dos líquidos A e B .....	47
Fig. 24 - Segunda remoção da camada aquosa dos copos - trabalho 7 .....	48
Fig. 25 - O copo 2 recebeu outra dáfnia porque contém poluente - Trabalho 7 ....	48
Fig. 26 - Escala de avaliação dos índices de Hilsenhof .....	62



### **Lista de gráficos:**

Gráfico 1 - Taxa de emergência de sementes em solo contaminado.....	24
Gráfico 2 - Medições dos comprimentos das plantas na terceira semana.....	28
Gráfico 3 - Percentagem de imobilidade Ctrl/lix .....	47
Gráfico 4 - Percentagem de mobilidade Ctrl/Vin.....	47
Gráfico 5 - Percentagem de imobilidade Ctrl/Det .....	48

### **Lista de tabelas:**

Tabela 1	
Desenho experimental do trabalho prático número 1 .....	22
Tabela 1	
Desenho experimental do trabalho pratico 1 .....	22
Tabela 2	
Número de plantas germinadas na segunda semana .....	23
Tabela 3	
Medições dos comprimentos das plantas na terceira semana .....	23
Tabela 4	
Organismos recolhidos no trabalho prático número 4 .....	34
Tabela 5	
Desenho do trabalho número 5 .....	38
Tabela 8	
Descrição dos valores de tolerância de Hilsenhoff .....	52
Tabela 9	
Valores de tolerância de Hilsenhoff .....	53
Escolas do Concelho de Aveiro que receberam o inquérito .....	54

## **PARTE TEÓRICA**

### **1. Introdução**

Para atingir a sustentabilidade do planeta é necessário estabelecer uma relação entre a sociedade, a tecnologia e a ciência (Hoffman et al., 2003). Os ecossistemas fornecem uma série de serviços dos quais a sociedade humana depende e que não são frequentemente substituídos pelas tecnologias existentes (Hoffman et al., 2003). A ciência é importante na medida em que ajuda a sociedade a perceber até que ponto o uso da tecnologia pode melhorar a sustentabilidade do planeta. Por isso a Ecotoxicologia, como ciência que estuda os efeitos das substâncias nos ecossistemas, pode auxiliar a sociedade a perceber quando é que a utilização da tecnologia pode ser útil. A sociedade actual terá de aceitar o compromisso de assegurar um futuro sustentável aos seus descendentes (Hoffman et al., 2003). Desta forma, o ensino experimental das ciências é importante para formar cidadãos com atitudes proactivas face ao uso sustentável dos recursos (Galvão et al., 2001a). Neste contexto, os programas de ensino tiveram de se adaptar a esta “*tríade*” entre a ciência, tecnologia e sociedade, num contexto de desenvolvimento de futuros cidadãos com atitudes proactivas para a utilização e concepção de tecnologia, permitindo a sustentabilidade dos recursos e uma sociedade responsável. Como ciência, a Ecotoxicologia, leva-nos a adoptar determinadas atitudes em relação à forma como exploramos os recursos. Nomeadamente, permite-nos compreender quais os efeitos negativos que provocamos nos ecossistemas quando realizamos diversas actividades diárias. Analisando os programas de ensino das ciências do Ministério da Educação (ME, 2009) para o ensino básico e secundário, verificou-se uma forte abordagem à ciência da Ecotoxicologia ao nível de conceitos teóricos. Para além da abordagem teórica verifica-se também uma alusão à concepção e execução de trabalhos experimentais sobre a contaminação de recursos naturais (ME, 2009). No entanto, apesar do esforço realizado pelo ME na demonstração da importância do ensino experimental das ciências, a componente prática existente nos manuais escolares habitualmente adoptados, não reforça esta posição. Da análise feita a quinze escolas do Concelho de Aveiro, verificou-se que a componente experimental não é muito abundante devido à falta de materiais didáticos de suporte para a sua realização e devido à carência de outros meios materiais. A análise às escolas consistiu na visita a duas escolas, EB23 de Cacia e Escola Secundária com 3º ciclo do ensino básico Dr Jaime Magalhães Lima, e no envio de um inquérito (ver anexos) às restantes treze escolas (ver anexos). Pressupõe-se que a realidade deste concelho reflecta, de algum modo, a situação das restantes escolas do país.

Com base na análise dos programas do ensino básico e na análise dos trabalhos experimentais realizados nas escolas do concelho de Aveiro, foi proposto um conjunto de trabalhos experimentais no âmbito da Ecotoxicologia, para apoio ao ensino experimental das ciências.

Os trabalhos experimentais propostos tiveram como base os conceitos teóricos relativos à ciência da Ecotoxicologia abordados nos programas e foram adaptados de protocolos experimentais da OCDE (Organização para o Comércio

e Desenvolvimento Económico), e da Agência de Protecção Ambiental dos Estados Unidos – USEPA (U.S. Environmental Protection Agency), tendo em conta a realidade das escolas em termos dos meios humanos e materiais existentes. Este conjunto de trabalhos proposto pretende também realçar a integração dos conceitos ciência, tecnologia e sociedade numa vertente de desenvolvimento de atitudes interventivas, referida nos programas de ensino das ciências do Ministério da Educação (ME, 2009).

No sentido de apoiar a realização dos trabalhos práticos propostos, foi criado um manual onde são abordadas as temáticas do programa com ênfase na Ecotoxicologia. O manual facilita a preparação da componente prática e simultaneamente é um elemento motivador dos alunos e professores para a problemática da poluição e degradação dos recursos naturais. Os principais conceitos chave abordados no programa são explorados no manual e nas experiências propostas.

## **2. Objectivos**

Com este trabalho pretende-se:

Demonstrar a abordagem à ciência da Ecotoxicologia existente nos programas de ensino das ciências;

Propor um conjunto de trabalhos práticos desenvolvidos no âmbito do programa do ensino experimental das ciências na área da Ecotoxicologia;

Apresentar um manual de apoio da componente prática proposta.

## **3. Abordagem à Ecotoxicologia dos programas de ensino das ciências**

A análise dos conteúdos programáticos foi feita com base em conteúdos disponibilizados no endereço electrónico do Ministério da Educação (ME, 2009). Além disso, foram ainda analisados vários manuais de biologia do ensino básico e secundário nomeadamente (Leal, J. I., et al., 1998), (Motta, L., et al., 2007), (Silva, A. D., et al., 2007), (Gomes, J. C., 2002), (Roque, M. et al., 1988), (Silva, A. D., 1989), entre outros. Observou-se que os conteúdos do ensino básico, nomeadamente do oitavo ano de escolaridade, possuíam uma forte componente de Ecotoxicologia, embora não a abordem com essa designação. Nalguns manuais foram encontradas alusões a alguns tratados internacionais no âmbito da Ecotoxicologia e também a obras como “Silent Spring” de Rachel Carson. O programa é constituído essencialmente por temas sobre impacto da intervenção humana na biosfera, gestão sustentável dos recursos naturais, riscos das inovações científicas e tecnológicas para o indivíduo, para a sociedade e para o ambiente e temas relativos à sustentabilidade e à preservação da biodiversidade. Ao nível do ensino secundário, nomeadamente no 12º ano, os temas relativos à Ciência da Ecotoxicologia são tratados de uma forma mais aprofundada sendo abordadas as interações dos contaminantes com os ecossistemas (processos de

eutrofização, bioamplificação e sinergismo), processo de contaminação ambiental, os principais contaminantes ambientais, as suas fontes e os seus riscos para a saúde com destaque para a magnitude dos seus efeitos (letais vs subletais). Alguns dos conceitos encontrados nos programas do ensino são conceitos chave da ciência da Ecotoxicologia – ex. toxicidade, dose letal, efeito agudo, efeito crónico, agente mutagénico, agente teratogénico e cancerígeno. Em termos de aquisição de conhecimento através da realização de trabalhos práticos, as directrizes dos programas referem a “concepção e execução de trabalhos experimentais sobre contaminação de recursos naturais” (ME, 2009). Para além disso, pretende-se que os alunos desenvolvam atitudes de reflexão e pensamento crítico sobre problemas ambientais causados pela actividade humana, que valorizem os avanços científico-tecnológicos na preservação dos recursos naturais e que desenvolvam posturas interventivas junto da sociedade sobre questões de educação ambiental (ME, 2009). Os conteúdos pretendem que se dê relevância aos principais contaminantes ambientais, as suas fontes e os seus riscos para a saúde humana para além de sugerir a integração das visitas de estudo no plano curricular de forma a articular actividades de preparação e síntese laboratoriais e de pesquisa com as realizadas durante as visitas de estudo (ME, 2009).

#### **4. Importância da ciência Ecotoxicologia na tecnologia e sociedade**

Desde há alguns anos tem-se reconhecido a importância de preservar os recursos naturais como forma de assegurar um desenvolvimento económico sustentável. O conceito de “*desenvolvimento económico sustentável*” começou por ser definido no Relatório de Brundtland, elaborado em 1987 pela Comissão Mundial para o Ambiente e Desenvolvimento da ONU (Soares, A.M.V., 2006a). Neste relatório, para além de terem sido referidos vários problemas ambientais à escala mundial, foi também referido que o desenvolvimento económico deve ter em conta o impacto sobre o ambiente (WHO, 1992). No entanto, ambiente e desenvolvimento encontram-se interligados (WHO, 1992). “Muitos dos problemas ambientais dos países em vias de desenvolvimento são consequência da falta de desenvolvimento...”, (Soares, A.M.V., 2006a). “...nos países desenvolvidos, o crescimento económico é muitas vezes responsável pela deterioração ambiental.”, (Soares, A.M.V., 2006a). O grau de desenvolvimento dos países determina o tipo poluição e de degradação dos recursos naturais existente. Assim, nos países em vias de desenvolvimento a falta de tecnologia não permite que os recursos naturais sejam preservados da depleção natural para satisfação das necessidades básicas humanas. Por outro lado, nos países industrializados a utilização de tecnologia promove a poluição e os efeitos degradantes dos recursos naturais para satisfação das necessidades supérfluas da população humana. A Ecotoxicologia evoluiu da necessidade de compreender os efeitos nocivos do número crescente de poluentes de origem antropogénica, para os quais se desconhecia os seus efeitos no ambiente (Soares, A.M.V., 2006a).

No ano de 1969, na Europa, René Truhaut, um toxicologista francês, criou o termo Ecotoxicologia. O conceito foi apresentado numa conferência do

Conselho Internacional da União Científica, da Europa, onde Truhaut liderou um grupo de Ecotoxicologia e foi encarregue de escrever uma definição precisa para este novo campo da ciência, que passou a ser a seguinte: “o ramo da toxicologia que estuda os efeitos tóxicos provocados pelos poluentes naturais e sintéticos nos constituintes dos ecossistemas (animal – incluindo o ser humano, vegetal e microbiano), de uma forma integrada” (Truhaut, 1977). A Ecotoxicologia é o resultado da extensão do objectivo da toxicologia à preservação da vida animal e vegetal. (Rombke et al., 1996; Cairns, 1995). Algumas das definições atribuídas à Ecotoxicologia são: “a aplicação da toxicologia - como ciência que estuda os efeitos dos tóxicos nos organismos individuais - ao estudo dos efeitos ecológicos dos poluentes” (Moriarty, 1983); “a ciência que procura prever os impactos dos químicos nos ecossistemas” (Levin et al., 1989); “o estudo do destino e efeito dos agentes tóxicos nos ecossistemas” (Cairns e Mount, 1990); “o estudo dos efeitos tóxicos nos organismos não humanos, populações e comunidades” (Suter, 1993); “o campo de estudos que integra os efeitos ecológicos e toxicológicos dos poluentes químicos nas populações, comunidades e ecossistemas com o transporte, transformação e degradação desses poluentes no ambiente” (Forbes e Forbes, 1993); “a ciência que prevê os efeitos dos agentes tóxicos potenciais nos ecossistemas naturais e nas espécies não alvo” (Hoffman et al., 1990).

A realização de uma avaliação de impacto ou efeito ecotoxicológico necessita da aquisição de conhecimentos sobre o ecossistema em estudo e sobre a física e a química das substâncias poluentes, (Soares, 2006b). “É necessário compreender os factores químicos, físicos e biológicos...para que se possa determinar como é que agentes potencialmente tóxicos actuam no ambiente e para prever o grau de exposição dos organismos.”, (Soares, 2006b). Através dos vários estudos já desenvolvidos em Ecotoxicologia a sociedade é capaz de abordar problemas como as substâncias químicas que utiliza, o que lhes acontece quando entram nos ecossistemas, como podem medir os efeitos nos organismos, quais são os parâmetros relevantes para uma dada espécie ou comunidade no seu habitat natural, interpretar a informação fornecida pelos modelos de ecossistemas, monitorizar os efeitos dos poluentes, prever a distribuição de uma substância no meio ambiente e os seus efeitos potenciais. “É, portanto, um instrumento essencial na luta contra a poluição, apoiando as políticas ambientais, leis, normas e métodos de controlo.”, (Soares, 2006b).

A Ecotoxicologia serve-se de ensaios de toxicidade para avaliar os efeitos adversos das substâncias químicas nos organismos vivos em condições padrão e de forma a assegurar a reproductibilidade (Hoffman, 2003). É importante assegurar a reproductibilidade e existência de protocolos padronizados para que seja possível a qualquer laboratório em qualquer momento obter resultados comparáveis, (Soares, et al., 1993). Quanto ao tipo de efeitos tóxicos, os ensaios podem ser letais e sub-letais ou crónicos. Os efeitos letais são quantificados através da medição da morte dos organismos enquanto os efeitos sub-letais são quantificados através da medição de alterações no crescimento, desenvolvimento, reprodução, respostas patológicas, bioquímicas, fisiológicas e comportamentais (Calow, P., 1993). Estes efeitos são expressos por critérios quantificáveis como o número de organismos mortos, a percentagem de ovos viáveis, alterações no comprimento e peso, percentagem de inibição enzimática, incidência de tumores, entre outros, (Calow, P., 1993).

Os efeitos tóxicos variam consoante o período de exposição seja mais longo ou mais curto. Numa exposição aguda os organismos entram em contacto com uma elevada concentração de substância química durante um curto espaço de tempo (horas ou dias). Quando a substância tóxica é rapidamente absorvida pelos organismos os efeitos observam-se imediatamente. No entanto, podem resultar efeitos a mais longo prazo semelhantes aos resultantes de uma exposição crónica, (Calow, P., 1993). Numa exposição crónica, os organismos estão expostos a concentrações reduzidas de uma substância química durante períodos de tempo mais prolongados (semanas, meses ou anos), (Calow, P., 1993). Esta forma de exposição (crónica) permite que a substância tóxica entre no organismo de forma contínua ou com intervalos frequentes, provocando efeitos observáveis a longo prazo. Poderá também ocorrer a manifestação de efeitos imediatos à exposição, (Calow, P., 1993).

O objectivo dos testes de toxicidade aguda é estudar uma resposta específica ao nível celular, do tecido, do organismo ou de uma população, durante um período de exposição curto (em relação ao tempo de vida do organismo) (Hoffman et al., 2003). Nestes testes o período de exposição pode ir de 24 a 96 h até 10 dias, sendo considerado curto em relação à duração de uma geração do organismo utilizado no teste (Hoffman et al., 2003). Os organismos são expostos a concentrações que normalmente seguem uma série logarítmica e decorrem na ausência de alimento (Hoffman et al., 2003). A resposta estudada é a morte ou a imobilização (Hoffman et al., 2003). Os parâmetros de medição são a  $CL_{50}$ , a  $CI_{50}$  ou a  $CE_{50}$ . Estes representam a concentração no final do teste que provoca em 50% dos organismos mortalidade ( $CL_{50}$ ), imobilidade ( $CI_{50}$ ) ou efeito ( $CE_{50}$ ), respectivamente. Estes parâmetros devem vir sempre acompanhados do tempo de exposição ( $CL_{50}$ , - 24h) (Hoffman et al., 2003).

O objectivo dos testes de toxicidade crónica é determinar os efeitos da exposição prolongada a substâncias tóxicas presentes no meio (Hoffman et al., 2003). Os ensaios crónicos têm um período de exposição comparativamente longo relativamente ao tempo de vida do organismo usado. Utilizam uma gama de concentrações inferior ao nível letal, pois o objectivo é estudar os efeitos sub-letais. Os organismos são alimentados durante o teste. Os parâmetros usados para medição dos efeitos sub-letais são a CENO (Concentração de Efeito Não Observado) – definida como a concentração testada mais elevada para a qual não se observam quaisquer efeitos significativos, quando comparados com os controlos - a CEO (concentração de Efeito Observado) – definida como a menor das concentrações testadas em que se observam efeitos significativos, quando comparados com os controlos – e por vezes a CMAT (Concentração Máxima Admissível do Tóxico) (Hoffman et al., 2003).

Para testar a toxicidade das substâncias químicas, a exposição dos organismos é feita através da introdução dos tóxicos no meio de ensaio. O modo como o tóxico é fornecido aos organismos pode ser contínuo, estático ou semi-estático, (Hoffman et al., 2003). Nos testes de fluxo estático, o tóxico é introduzido no meio de teste no início do ensaio, não sendo renovado até ao final (Hoffman et al., 2003). Este regime de fluxo é mais utilizado em ensaios agudos. Estes ensaios podem estar limitados nos casos em que a substância de teste é volátil ou muito densa, pois com estas propriedades a concentração da substância não se mantém constante durante o decorrer do ensaio (Hoffman et al., 2003).

Nos testes de fluxo contínuo, os organismos testados são submetidos continuamente a entradas e saídas de soluções frescas da substância tóxica no meio de ensaio (Hoffman et al., 2003). Neste tipo de ensaios é mais fácil controlar e manter constante a concentração da substância de teste. Este regime de fluxo de teste é mais adequado à realização de ensaios crónicos porque permite a remoção contínua de material fecal e de metabolitos, para além de assegurar uma concentração de tóxico constante ao longo do tempo (Hoffman et al., 2003). Por outro lado, este regime de fluxo não se pode aplicar a ensaios que utilizem meios de teste sólidos. Os principais inconvenientes destes testes são os custos elevados e a necessidade de grandes volumes de meio de ensaio e de substância de teste (Hoffman et al., 2003).

No caso de testes de fluxo semi-estático existe um equilíbrio entre os sistemas de fluxo contínuo e os de fluxo estático. Utiliza-se o mesmo material laboratorial que nos testes estáticos, no entanto, os organismos são transferidos periodicamente para novas soluções de teste. Tal como nos ensaios de fluxo contínuo, a renovação periódica do meio permite a alimentação durante o ensaio sem haver acumulação de material fecal, alimentos ou metabolitos. No entanto, o aumento da frequência de manipulação dos organismos de teste pode provocar lesões e aumentar o seu stress, (Hoffman et al., 2003).

Os ensaios de toxicidade consistem em controlos e tratamentos. Por questões de tratamento estatístico os tratamentos são replicados no mínimo três vezes, sendo as réplicas sempre feitas simultaneamente em cada ensaio (Hoffman et al., 2003). Os controlos servem para assegurar que os efeitos observados estão associados à exposição à substância em teste. Existem três tipos básicos de controlos, o controlo negativo, o controlo com solvente e o controlo de referência. O controlo negativo ou branco consiste num grupo de organismos colocados no meio de diluição dos tratamentos, mas sem a substância de teste ou o solvente (veículo) (Hoffman et al., 2003). Este tipo de controlo é utilizado para determinar se existem efeitos relacionados com o meio de ensaio ou com a condição dos organismos de teste (Hoffman et al., 2003). O controlo com solvente, é utilizado quando as substâncias de teste são pouco hidrossolúveis e necessitam de um solvente orgânico para se dissolverem melhor no meio de ensaio (Hoffman et al., 2003). Este controlo dá-nos informação sobre os possíveis efeitos imputáveis ao uso do solvente. O controlo positivo (de referência) é um controlo negativo com adição de uma substância de referência. Uma substância de referência é uma substância para a qual se conhecem bem os efeitos sobre os organismos, previamente determinados através de experiências. As substâncias de referência obedecem aos critérios de serem tóxicas a baixas concentrações, induzem mortalidade com rapidez, são compostos estáveis e com modo de acção não selectivo e devem ser detectáveis através de técnicas analíticas correntes. Estas substâncias são usadas para determinar o estado de saúde e sensibilidade dos organismos, comparar toxicidades relativas de substâncias utilizando o controlo como padrão interno, para efectuar calibrações inter-laboratoriais e para avaliar a reproductibilidade dos resultados ao longo do tempo (Hoffman et al., 2003). Antes da realização de um ensaio de toxicidade, devem ser definidas condições de validade. Para os ensaios agudos as condições de validade englobam o valor máximo de percentagem de mortalidade que pode ocorrer nos organismos usados nos controlos (não deve exceder 10%) (Soares, et

al., 1993). Para os ensaios crónicos as condições de validade mais utilizadas são as variações de pH do meio, a diminuição dos níveis de oxigénio dissolvido e o nº de descendentes produzidos (Soares, et al., 1993).

A selecção das espécies nos testes ecotoxicológicos é também um factor muito importante e que deverá obedecer aos seguintes critérios: ser representativa de um grupo ecológico importante em termos taxonómicos (nível trófico ou nicho), ocupar uma posição intermediária nas cadeias alimentares, estar disponível em diferentes épocas e em número suficiente, ser fácil de obter em laboratório, permitir a obtenção de estirpes geneticamente uniformes, possuir boas condições de saúde, existir informação suficiente sobre a biologia do organismo, estar entre as mais sensíveis e ser consistente nas respostas (Soares, 2006b). Não devem ser usadas espécies indígenas, raras ou em vias de extinção (Soares, 2006b). Não existem espécies ideais, pois não existem espécies que cumpram todos os critérios. Devido à variação inter-específica, espécies diferentes expostas à mesma gama de concentrações da mesma substância podem mostrar efeitos diferentes (Soares, 2006b). Por esta razão é importante efectuar os testes com várias espécies, no mínimo uma bateria de testes deve incluir uma espécie de algas (*Selenastrum*, *Chlorella*), uma de invertebrados (consumidor primário – *Daphnia* ou *Ceriodaphnia*) e (consumidor secundário – peixe) (Soares, 2006b).

Os ecossistemas envolvem interações complexas de factores físicos, químicos e biológicos, sendo difícil perceber a resposta de um sistema às substâncias tóxicas (Levin S.A et al. 1989). Esta avaliação é mais difícil devido à capacidade de adaptação dos componentes bióticos à diversidade específica do ecossistema (que pode mudar com o tempo) e às diferentes respostas estruturais e funcionais entre os componentes biológicos (Levin S.A et al. 1989). Os ecossistemas são todos diferentes e mesmo os mais semelhantes não são necessariamente afectados do mesmo modo pelas mesmas substâncias tóxicas. Pequenas alterações no ambiente físico ou na composição das espécies podem resultar em diferenças na distribuição de uma substância e em efeitos diferentes (Levin S.A et al. 1989). A avaliação de risco ecológico está muito limitada pela incapacidade de prever com fiabilidade a respostas ao nível dos ecossistemas (Levin S.A et al. 1989). Algumas das razões incluem a grande variedade de ecossistemas e de tipos potenciais de perturbações, falta de recolha de dados para comparação entre ecossistemas perturbados, existência de pouca investigação sobre a ecologia dos ecossistemas, a grande variabilidade intra e inter- ecossistemas, entre outras (Levin S.A et al. 1989). Referimo-nos a uma perturbação quando é induzida alguma acção que afecta o ecossistema para além da sua condição normal ou de referência (Levin S.A et al. 1989). A resposta de um ecossistema traduz-se pela alteração da sua dinâmica e eventualmente por um desvio da sua condição de referência (Levin S.A et al. 1989). Por outro lado, todos os ecossistemas possuem uma capacidade de recuperação, ou seja, a capacidade de voltar à condição de referência ou próximo dela (Levin S.A et al. 1989). Num ecossistema, a resposta a um determinado tipo de perturbação envolve sempre uma caracterização da intensidade, frequência e duração da exposição ao elemento perturbador (Levin S.A et al. 1989). Os ecossistemas têm uma capacidade normal de gerir vários tipos de perturbações naturais ou não naturais (Levin S.A et al. 1989). Podemos observar alguns exemplos de



perturbações naturais normalmente geridas pelos ecossistemas (ex. fogos naturais) (Levin S.A et al. 1989). A grande questão na avaliação de risco ecológico é perceber quando uma determinada perturbação provoca uma alteração relevante num determinado ecossistema (Levin S.A et al. 1989). Uma das abordagens utilizadas para avaliar os efeitos ecológicos é a identificação de indicadores que deverão ser analisados para detectar potenciais alterações nos componentes dos ecossistemas (Levin S.A et al. 1989).

A manifestação dos efeitos ao nível celular nos indivíduos pode alertar para os efeitos potenciais de um poluente que mais tarde se irão reflectir ao nível da população e da comunidade. Por outro lado, os efeitos observados ao nível do ecossistema denunciam um problema de poluição numa fase mais avançada. Desta forma, tanto os ensaios laboratoriais como as observações de campo são igualmente importantes na detecção dos efeitos reais ou potenciais dos poluentes (Levin S.A et al. 1989).

A Ecotoxicologia serve-se de métodos capazes de prever os efeitos nos organismos, populações e ecossistemas, e também de métodos capazes de monitorizar os efeitos. Na categoria dos métodos de previsão estão os ensaios à escala laboratorial e de campo que incluem testes agudos e crónicos em organismos terrestres, aquáticos, ensaios de fitotoxicidade, ensaios de microcosmo, mesocosmo, QSAR e SAR.

Os ensaios realizados em laboratório que incluem os testes crónicos e agudos. Estes testes podem utilizar apenas uma espécie ou podem ser constituídos por uma bateria de testes com várias espécies de níveis tróficos diferentes (algas, invertebrados, peixes). O processo normalmente seguido por alguns protocolos utiliza as baterias de testes com várias espécies. A avaliação de fitotoxicidade de uma substância química é essencial numa avaliação de risco, pois os produtores primários constituem o nível trófico essencial de um ecossistema (Hoffman et al., 2003). Por outro lado, como a maioria das substâncias químicas lançadas no meio ambiente atingem os ecossistemas aquáticos, as avaliações de toxicidade em algas e plantas aquáticas são muito importantes (Hoffman et al., 2003).

Actualmente os estudos aquáticos são utilizados para auxiliar pesquisas ou avaliações de risco ambiental. Os custos e a duração necessários para realizar estes testes levaram os cientistas a pesquisar espécies de teste e também fases do ciclo de vida de maior sensibilidade (Hoffman et al., 2003). Por exemplo, a avaliação da toxicidade de um efluente necessita de vários testes de toxicidade que levam dias sucessivos. A utilização de ensaios (ex. Microtox) pode acelerar a mesma avaliação (Hoffman et al., 2003).

A modelação de ecossistemas aquáticos, conhecida por microcosmos e mesocosmos, permite simular ecossistemas ou partes deles de forma a poder estudar e avaliar o percurso seguido e os efeitos dos contaminantes. Os microcosmos são definidos por Giesy e Odum (Giesy, et al., 1990) como subconjuntos de ecossistemas naturais ligados artificialmente, que podem ser replicáveis e conter vários níveis tróficos. Os mesocosmos são definidos como porções de ecossistemas naturais maiores, fisicamente fechadas, como lagoas e canais (Giesy, et al., 1990). Estes sistemas são auto-sustentáveis por longos períodos de tempo. O sucesso da utilização destes sistemas depende das escalas de amostragem temporais e espaciais que são estabelecidas (hoffman,

2003). É importante medir a exposição em função do histórico usando parâmetros como o tamanho, tempo entre gerações, habitat e necessidades alimentares (Hoffman et al., 2003). Para compreender as consequências da entrada de um ou vários poluentes nos ecossistemas aquáticos devem-se usar experiências de laboratório e campo adequadas e uma boa monitorização de dados (Hoffman et al., 2003).

As relações estrutura actividade (SAR's) são comparações ou relações entre uma estrutura química, sub-estrutura química ou alguma propriedade física ou química associada a uma dada estrutura e uma actividade biológica (ex. toxicidade aguda) ou química (ex. hidrólise) (Hoffman et al., 2003). Quando o resultado é descrito quantitativamente, diz-se uma relação de estrutura actividade quantitativa (QSAR) (Hoffman et al., 2003).

A maior parte dos SAR foram desenvolvidos para prever efeitos ecológicos de substâncias químicas orgânicas, enquanto os QSAR foram desenvolvidos para prever efeitos de substâncias químicas em organismos aquáticos de água doce (Hoffman et al., 2003).

Na categoria dos métodos de monitorização estão os programas de biomonitorização, a utilização de biomarcadores na monitorização aquática e terrestre, a utilização de bioindicadores.

Os dados de biomonitorização de longa duração constituem a ligação entre os cientistas de campo e os legisladores (Hoffman et al., 2003). Os dados dos programas de biomonitorização têm sido muito úteis na identificação de problemas ecotoxicológicos ao nível local, regional e nacional para além de terem um papel importante no desenho e avaliação de estudos ecotoxicológicos (Hoffman et al., 2003). Os avanços tecnológicos têm permitido recolher, analisar e avaliar cada vez mais dados (Hoffman et al., 2003). Estes dados estão disponíveis à escala local, regional e nacional, e os dados de uma escala podem ser usados para auxiliar estudos de outras escalas (Hoffman et al., 2003). Exemplo, um cientista interessado no estudo do impacto do mercúrio num local específico pode usar dados de um programa de biomonitorização regional para identificar indicadores ecológicos importantes a monitorizar (ex. peixes, plantas aquáticas) (Hoffman et al., 2003). A avaliação do percurso percorrido pela água e pelo ar, em larga escala, pode fornecer informações importantes sobre a distância das fontes e como estas podem afectar a área de estudo (Hoffman et al., 2003). A pesquisa à escala local também pode ajudar a interpretar os resultados de um programa de monitorização de larga escala (Hoffman et al., 2003). Os estudos à escala dos ecossistemas podem ajudar a avaliar questões ligadas ao desenho de amostragem, interacção entre e dentro dos ecossistemas (ex. ciclos biogeoquímicos, produtividade e dinâmica de populações), e a distribuição das substâncias químicas no ecossistema (Hoffman et al., 2003). A informação recolhida nos programas de biomonitorização pode ser usada para melhorar a gestão dos recursos naturais a longo prazo (Hoffman et al., 2003).

A utilização cada vez maior de biomarcadores em ambientes naturais, onde os organismos estão expostos a vários tóxicos (naturais ou antropogénicos) ao longo do tempo, permite uma indicação mais precoce dos efeitos potenciais ao nível da população (Hoffman et al., 2003). Os biomarcadores são outra forma de monitorizar o estado do ecossistema em relação à biodisponibilidade dos

contaminantes (Hoffman et al., 2003). Podem ser medidos nos bioindicadores e evitam o seu desaparecimento.

Os biomarcadores são divididos em três classes: de efeito, de exposição e de susceptibilidade. Os biomarcadores de exposição medem a concentração de substância tóxica no organismo, os de efeito medem as concentrações de substâncias metabolizadas pelo organismo a partir da exposição a uma determinada substância tóxica e os biomarcadores de susceptibilidade analisam algumas características genéticas que aumentam a sensibilidade dos organismos a alguns compostos. Todos eles são medidos em parte ou no total dos organismos e dão indicações muito precoces em relação ao estado de contaminação do ecossistema. Os biomarcadores medem substâncias ou os seus metabolitos em parte ou no total do organismo dando indicações de alterações ao nível celular, molecular e fisiológico, provocadas por algumas substâncias presentes no ecossistema (Hoffman et al., 2003). São um meio rápido e barato de avaliar a toxicidade e podem servir de marcadores para classes de substâncias químicas específicas (Hoffman et al., 2003). Alguns exs. de biomarcadores usados são a inibição das acetilcolinesterases, indução/inibição de actividade enzimática, aberrações de síntese de hemoglobina, entre outros (Hoffman et al., 2003).

Os bioindicadores são utilizados para monitorizar a condição do ecossistema. São seres vivos que por serem mais sensíveis que as restantes populações de determinados ecossistemas, são utilizados para indicarem o estado de contaminação do ecossistema (Hoffman et al., 2003). A monitorização da sua presença ou ausência permite obter as indicações da condição do ecossistema.

Os bioindicadores são uma parte importante da biomonitorização.

## **5. A importância do ensino experimental das ciências**

Os trabalhos experimentais assumem, na educação em ciências, uma importância fundamental como ferramentas que permitem ao aluno encontrar soluções para os problemas. A importância destes trabalhos no ensino das ciências é justificada pelo facto de estes motivarem os alunos, permitirem a visualização da relação entre as diversas variáveis envolvidas na interpretação dos fenómenos em análise e permitirem o desenvolvimento de aptidões próprias do trabalho experimental (Caamaño, 2003). A realização de trabalhos experimentais permite o desenvolvimento de competências nos domínios do conhecimento, raciocínio, comunicação e atitudes (Galvão et al., 2001a). No entanto, os trabalhos experimentais desenvolvidos pelos alunos devem ser devidamente organizados e acompanhados pelos professores para que surtam o seu impacto (Praia, 1999 in Martins, 2003).

Normalmente atribui-se às disciplinas de ciências um carácter prático e experimental. A expressão “experimental”, que aparece frequentemente mencionada quer nos manuais escolares quer nos programas de ensino do ministério da educação, é entendida como actividade de laboratório e/ou de “experiência”. Alguns autores defendem que este termo inclui todas as actividades

em que os alunos têm uma participação activa (Leite, 2001). Em Portugal, os trabalhos práticos desenvolvidos nas aulas de ciências estão associados ao trabalho de laboratório, ou seja, como já foi referido acima, o trabalho prático é entendido como sinónimo de trabalho laboratorial (Leite, 2001). Nem sempre a realização de experiências de laboratório envolve a participação activa do aluno, pois, pelas mais diversas razões, é mais fácil o professor executar e os alunos observarem. Além disso, existem ainda os casos em que as experiências práticas se resumem a discutir e analisar os resultados das experiências que vêm descritos nos manuais.

Quando os trabalhos experimentais se resumem a um conjunto de instruções para os alunos seguirem e executarem, sem terem tempo de reflectir sobre os objectivos desses trabalhos, invariavelmente a eficácia, em termos de aprendizagem, é baixa (Caamaño, 2003). Desta forma, os trabalhos experimentais não devem ser uma simples “receita” que os alunos seguem para obter os resultados esperados. Os trabalhos experimentais devem permitir aprender ciências sendo essencial que permitam aos alunos o envolvimento desde o planeamento até à discussão dos resultados (Roberts, 2004).

No ensino secundário, o trabalho experimental esteve integrado nas disciplinas de ciências até à década de 70 e posteriormente, em disciplinas independentes de carácter opcional (Leite, 2001). A reforma educativa implementada em inícios da década de 90 veio reforçar a importância da realização do trabalho laboratorial com a criação das disciplinas de Técnicas Laboratoriais de Física, Química, Biologia e Geologia e com a maior importância atribuída a esta componente nos programas oficiais das disciplinas de ciências, quer no ensino básico quer no ensino secundário (Leite, 2001). Com a última reforma curricular que entrou em vigor em pleno, no ensino secundário, no ano lectivo 2004/2005, a componente prática voltou a estar integrada nas disciplinas de ciências. Actualmente, e no que se refere ao ensino básico, a importância da componente prática é explicitada nas orientações curriculares com a sugestão de actividades como saídas de campo, recolha e organização de material, classificando-o por categorias ou temas, planificação e desenvolvimento de pesquisas diversas com base na resolução de problemas, realização de actividades experimentais, entre outras. Apela-se ainda ao envolvimento do aluno em experiências educativas diferenciadas como forma de desenvolver competências essenciais para a literacia científica em diferentes domínios (Galvão et al., 2001a).

O termo “trabalho experimental” aplica-se às actividades práticas em que existe manipulação e controlo de variáveis, medição de valores da variável dependente e controlo dos valores das variáveis independentes (Leite, 2001; Martins, 2003). O trabalho experimental pode ser laboratorial, de campo ou outro tipo de actividades práticas. As actividades de laboratório distinguem-se das de campo pelo local onde decorrem (Leite, 2001).

A análise dos manuais escolares e das práticas dos professores, quer do ensino básico quer do ensino secundário, mostram que os poucos trabalhos experimentais se limitam a ser meras práticas de verificação, ilustração ou desenvolvimento de técnicas de laboratório, onde o aluno tem apenas que seguir o protocolo (Fernandes e Silva, 2004).

Estas práticas parecem contribuir para o conhecimento de um número reduzido de procedimentos (Leite, 2001) e não permitem explorar toda a riqueza educativa do trabalho experimental (Cachapuz, 1995). Cachapuz et al., (2000a), refere que devem ser implementadas várias metodologias diferentes, que incluem situações experimentais com vários graus de abertura e com integração de percursos de pesquisa, a realização de um relatório descritivo do trabalho experimental para consolidar e reflectir sobre o trabalho realizado, a utilização do grupo como forma de explorar a aprendizagem cooperativa e a comunicação e o recurso a métodos interrogativos para fomentar o uso das ideias próprias dos alunos na realização do trabalho experimental.

De acordo com Canavarro (1999), existem vários tipos de ensino, entre os quais o ensino por transmissão (EPT), o ensino por descoberta (EPD), ensino por mudança conceptual (EMC) e ensino por pesquisa (EPP).

No ensino por transmissão o aluno limita-se a acumular os conhecimentos transmitidos pelo professor através de exposições orais. Os objectivos deste tipo de ensino são a instrução do aluno e a aquisição de conhecimentos (Canavarro, 1999).

No ensino por descoberta, que surgiu por volta dos anos 70, o aluno aprende os conteúdos científicos, por si próprio, através da observação (Canavarro, 1999).

No ensino por mudança conceptual a tónica é colocada na actividade cognitiva do sujeito. O aluno é visto como construtor da sua própria aprendizagem conceptual e, portanto, um sujeito activo no processo. O aluno fornece as alternativas e o professor organiza as estratégias que provocam o conflito cognitivo e com elas processa-se a aprendizagem. O erro permite o progresso do conhecimento científico, que é incerto, dinâmico, dialéctico e pouco estruturado. As suas grandes finalidades são a mudança de conceitos e a instrução do aluno (Canavarro, 1999).

O ensino por pesquisa engloba uma nova perspectiva sobre o ensino das ciências e tem como principais objectivos a construção de conceitos, competências, atitudes e valores que contribuem para a educação pessoal e social do aluno. Perde-se ênfase na instrução e acentua-se na educação. O aluno é o sujeito activo do processo de ensino aprendizagem assumindo o papel de pesquisador e reflectindo criticamente sobre as suas maneiras de pensar, de agir e de sentir (Canavarro, 1999).

Actualmente, a educação em ciências é integrada com os aspectos pessoais, sociais e tecnológicos porque o aluno é visto como o elemento interventivo e dinamizador da sociedade e responsável pela criação da tecnologia (Gil e Vilches, 2001,2004). De acordo com Gil e Vilches, (2001,2004), os alunos de hoje terão de tomar consciência das complexas relações entre ciência, tecnologia e sociedade.

A abordagem do ensino das ciências do ponto de vista da integração dos conceitos de ciência, tecnologia e sociedade permite aos cidadãos enfrentarem os desafios das questões sociais e tecnológicas das suas vidas (Canavarro, 1999).

O ensino das ciências é orientado no sentido da compreensão da ciência, da tecnologia e do ambiente bem como das suas implicações na sociedade e como são repercutidos nos objectos de estudo da ciência e da tecnologia (Cachapuz et al., 2002).

É no contexto da abordagem integrada dos conceitos de ciência, tecnologia e sociedade que o ensino experimental tem a sua maior importância, pois permite o desenvolvimento de competências de análise, síntese e aplicação para dar respostas aos problemas propostos pelos próprios alunos em que o professor apenas facilita e orienta o processo de resolução. Esta estratégia de ensino encoraja os alunos a levantar questões, a discuti-las e resolvê-las de uma forma dinâmica. A grande finalidade desta forma de ensino é garantir que as aprendizagens assim adquiridas serão úteis no dia-a-dia (Cachapuz et al., 2000a, 2000b, 2002). Precisamos de uma população mais responsável, interventiva e dinâmica nas atitudes de protecção e conservação dos recursos naturais e para isso, o ensino experimental das ciências tem um contributo inestimável. A aprendizagem adquirida a partir do “saber fazer” é muito mais eficaz do que aquela obtida apenas do “saber saber”.

Talvez os agentes transmissores do conhecimento de hoje ainda estejam muito focados para o ensino dos conceitos e processos e portanto pouco preparados para uma abordagem prática integrada da ciência, tecnologia e sociedade (Cachapuz et al., 2000a). Os conceitos são apenas o resultado do processo de aprendizagem obtidos das experiências práticas que lhe permitem adquirir e desenvolver capacidades, competências, atitudes e valores que estão muito para além da mera aprendizagem dos conceitos (Cachapuz et al., 2000a).

Os problemas reais que se pretendem solucionar não podem ter uma abordagem estritamente disciplinar já que englobam diversas dimensões necessitando da intervenção de domínios variados e complementares (Cachapuz et al., 2002).

## **PARTE PRÁTICA**

### **6. Conteúdos práticos abordados no programa**

Conforme já foi referido no capítulo da análise dos conteúdos programáticos, as directrizes do programa sugerem que a aquisição de conhecimento de procedimentos seja feita através da “concepção e execução de trabalhos experimentais sobre contaminação de recursos naturais”, (ME, 2009). É também sugerido que os alunos desenvolvam atitudes de reflexão e pensamento crítico sobre problemas ambientais causados pela actividade humana. Sugere-se ainda, como actividades práticas, a realização de visitas de estudo em articulação com actividades laboratoriais e de pesquisa. Algumas das metodologias propostas pelo Ministério da Educação para implementar os conteúdos são a interpretação de quadros, gráficos e/ou tabelas sobre os contaminantes; o estudo de casos, as suas causas, as suas dimensões espaciais e temporais, as consequências ambientais, humanas e as respectivas soluções adoptadas; a problematização de situações de contaminação de recursos conhecidas da região em que se inserem; e a concepção e realização de trabalhos experimentais para simular a contaminação de aquíferos e a avaliação da qualidade biológica da água.

A componente de experiências práticas não é muito abundante nos manuais escolares, embora seja bastante referida nos conteúdos programáticos do ensino. As experiências práticas existentes nos manuais incluem trabalhos sobre a influência da temperatura e luminosidade na germinação de sementes, a simulação do efeito das chuvas ácidas sobre as plantas, realização de uma compostagem, teste de efeito do dióxido de enxofre nas plantas e nos materiais com metabissulfito de sódio (Amparo, D.S. et al., 1989), a existência de partículas sólidas na atmosfera (Amparo, D.S. et al., 1989) e simulação da erosão do solo. Além de não serem muito abundantes, os trabalhos práticos existentes nos manuais, são muito incompletos no fornecimento de elementos chave para a sua realização. Não demonstram os resultados possíveis, não indicam onde se podem encontrar os meios materiais necessários, não dão alternativas possíveis à utilização dos materiais descritos, entre outros aspectos. Por outro lado, existem várias limitações na implementação de trabalhos práticos nas escolas, nomeadamente a falta de meios laboratoriais e a necessidade de um planeamento muito rigoroso que envolve bastante esforço dos docentes dentro e fora das aulas. A dimensão das turmas é normalmente elevada para um só docente dinamizar uma actividade experimental ao máximo. O planeamento de actividades laboratoriais requer alguns cuidados muito criteriosos sobre vários aspectos, entre os quais se destacam os meios materiais necessários, os reagentes a utilizar, a obtenção dos organismos necessários, a duração da actividade experimental, o tipo de questões e conceitos que é necessário abordar para desencadear a participação activa dos alunos, etc.

Ao nível de trabalhos de campo, também é possível encontrar alguns manuais com pequenos trabalhos, mas só são possíveis quando é economicamente viável a deslocação dos alunos para locais adequados à realização dos mesmos. Para além disso, o trabalho de campo exige um complemento com trabalho laboratorial. Deste modo, justifica-se o esforço no sentido de criar várias experiências de ecotoxicologia práticas de laboratório a incluir no ensino básico e secundário no âmbito dos programas de ensino das ciências.

## **7. Trabalhos práticos propostos**

O conjunto dos trabalhos práticos aqui apresentado foi desenvolvido a partir da análise dos conteúdos programáticos do ensino das ciências do ministério. A conjugação desses conteúdos com a pesquisa de experiências já existentes nos manuais escolares, com alguns dos protocolos experimentais de ecotoxicologia existentes, com trabalhos laboratoriais desenvolvidos em laboratórios universitários, e atendendo às condições existentes na realidade das escolas do concelho de Aveiro, produziram-se os trabalhos práticos a seguir apresentados.

As adaptações feitas aos protocolos são bastante profundas pois é necessário atender a uma série de constrangimentos existentes na realidade das escolas. Os temas mais abrangidos pelas experiências propostas nos manuais escolares são a contaminação com materiais tóxicos, a análise da importância

dos decompositores na reciclagem de materiais e a água como um recurso vital (Leal, J. I, et al., 1998), (Motta, L., et al., 2007), (Silva, A. D., et al., 2007), (Gomes, J. C., 2002), (Roque, M. et al., 1988), (Silva, A. D., 1989). De uma forma geral, as experiências seleccionadas e adaptadas abarcam três compartimentos do meio ambiente (ar, água e solo), permitindo aos alunos terem uma boa percepção do impacto dos poluentes no meio ambiente.

Existem várias instituições que desenvolvem protocolos de metodologias experimentais práticas na área da Ecotoxicologia. Entre elas podemos enumerar a OCDE (Organização para o Comércio e Desenvolvimento económico), a EPA (Environment Protection Agency), o ECVAM (European Centre for Validation of Alternative Methods), a ASTM (American Standard Methods) e a ISO (International Standard Organization). Para realizar este trabalho, foram analisados os protocolos da OCDE, da ISO e da EPA, de onde se escolheram os que estão relacionados com os conteúdos programáticos do ensino básico e secundário nacional no âmbito da Ecotoxicologia. Os protocolos que se encontravam no âmbito do programa do ensino foram adaptados de forma a possibilitar a sua realização com o menor número de meios possível. Muitos dos protocolos da OCDE, EPA e ISO, que se enquadram no âmbito do programa não puderam ser adaptados dado o seu elevado grau de complexidade.

## **7.1 Trabalho número 1**

**Designação:** Efeitos sobre a germinação e crescimento de sementes expostas a solos contaminados.

### **Objectivo:**

Este trabalho pretende avaliar efeitos crónicos em sementes expostas a contaminantes no solo. Observam-se os efeitos adversos na parte superior das plantas germinadas a partir de sementes expostas ao solo contaminado e mede-se o crescimento dessas plantas, avaliando os efeitos do contaminante no crescimento.

A Ecotoxicologia recorre a testes de toxicidade em plantas terrestres para avaliar o efeito dos poluentes no solo resultantes das actividades da sociedade humana.

### **Temas explorados**

Com este trabalho podem-se formular questões sobre os principais contaminantes libertados para o solo, quais as actividades humanas produtoras desses contaminantes, quais os efeitos provocados nos ecossistemas e qual a importância do compartimento solo. O professor pode apresentar os conceitos de toxicidade, de poluição, de contaminação e de efeito crónico. O conceito de toxicidade de acordo com (Paracelsus, 1493-1541): “todas as coisas são venenos ... apenas a dose determina que algo não é um veneno” pode ser abordado no



âmbito da medição dos efeitos no crescimento das plantas em comparação com o controlo. Os contaminantes utilizados produzem efeitos negativos no crescimento porque são tóxicos, daí o conceito de toxicidade. A poluição está associada a várias “substâncias que ocorrem no ambiente, pelo menos em parte como resultado da actividade humana, e que têm efeito nefasto nos organismos vivos”(Moriarty, 1983). Neste trabalho associam-se as várias substâncias de teste utilizadas a diversas actividades humanas, abordando assim o conceito de poluição. “...Os efeitos crónicos são quantificados através da medição de alterações no crescimento, desenvolvimento, reprodução, respostas patológicas, bioquímicas, fisiológicas e comportamentais (Calow, P., 1993). Estes efeitos são expressos por critérios quantificáveis como o número de organismos mortos, a percentagem de ovos viáveis, alterações no comprimento e peso, percentagem de inibição enzimática, incidência de tumores, entre outros, (Calow, P., 1993). Neste trabalho medem-se as alterações no crescimento das plantas expostas em comparação com os controlos, quantificando-se assim o efeito de cada concentração de contaminante utilizado.

O professor pode também utilizar este trabalho prático para sensibilizar a comunidade local sobre os efeitos da contaminação do solo e qual a importância da tecnologia usada no tratamento dos resíduos e efluentes. Ainda ao nível da sensibilização, o professor pode reforçar o facto do recurso solo não ser renovável a um ritmo tão acelerado quanto aquele com que é degradado pelos poluentes e a sua importância vital na manutenção da sustentabilidade. Este trabalho permite ainda a elaboração e interpretação de gráficos ou tabelas sobre os contaminantes utilizados. Permite confrontar os resultados obtidos com notícias existentes na comunicação social, fazendo a ligação com a realidade.

### **Descrição**

Este trabalho foi adaptado do Protocolo da OCDE 208 “Terrestrial Plant Test: Seeding Emergence and Growth test” (OCDE, 2003).

De acordo com o estabelecido no protocolo, as sementes são expostas ao solo contaminado com a substância de teste em várias concentrações diferentes. Os efeitos são avaliados durante 14 a 21 dias (após a germinação de 50% das sementes do controlo) (OCDE, 2003). O protocolo recomenda a avaliação visual dos efeitos (clorose, mortalidade, pragas, anomalias no desenvolvimento) e a germinação das sementes (OCDE, 2003). Além disso está previsto no protocolo a avaliação da biomassa (comprimento e/ou massa). Este teste toxicológico preconiza que a substância de teste possa ser aplicada à superfície do solo ou incorporada nele, dependendo da via de exposição do solo ao contaminante (OCDE, 2003). Neste trabalho optou-se pela incorporação do contaminante no solo por ser uma das vias de exposição mais frequentes e porque envolve menos meios materiais. De acordo com (OCDE, 2003) o teste pode ser feito com uma única concentração ou pode ser feito com várias concentrações, representando um teste dose-resposta (OCDE, 2003).

As principais alterações feitas ao protocolo foram a diminuição do número de sementes usadas, a diminuição do número de réplicas por controlo e por concentração; As condições ambientais do teste (temperatura, humidade, fotoperíodo) também não seguiram as condições padrão; não foram utilizadas

sementes padrão e o tipo de solo utilizado também não obedeceu às condições recomendadas no protocolo. Todas estas alterações tiveram como objectivo minimizar os meios a utilizar para a realização do trabalho prático em contexto escolar. Neste trabalho mediu-se apenas o comprimento da parte superior das plantas e observaram-se os efeitos nas folhas.

O trabalho proposto utiliza várias concentrações (doses), tendo-se observado para cada uma a respectiva resposta. Utilizaram-se sementes da espécie *Triticum aestivum* (trigo), por ser uma das espécies recomendadas pelo protocolo (Anexo II, OCDE, 2003) e por ser de mais fácil aquisição.

### **Os materiais utilizados nesta experiência foram:**

Sementes de *Triticum aestivum* (trigo) ou outras – ver em dicas.

Recipientes plásticos (30) (podem-se utilizar recipientes como fundos de garrafas de plástico ou outros recipientes que possam ser adaptados à experiência);

Contaminantes (sugestões: lixívia, vinagre, detergente)

Régua e conta-gotas.

### **A experiência decorreu com a seguinte ordem:**

Colocou-se uma porção de solo suficiente para preencher cada um dos 30 recipientes necessários para a realização da experiência; É importante que essa porção seja aproximadamente igual em todos os recipientes.

Semearam-se 2 sementes de *Triticum aestivum* (Trigo) em cada recipiente e regou-se cada recipiente com 50ml de água canalizada para consumo humano.

Separam-se 3 recipientes para servirem de controlo. Nestes não foram adicionados contaminantes. Destinaram-se apenas a testar se as sementes estavam em bom estado de conservação, a verificar qual o crescimento e germinação sem efeito dos contaminantes.

Foram adicionados 3 contaminantes (lixívia, vinagre e detergente) ao solo com um conta-gotas logo após o cultivo das sementes nos restantes recipientes.

Para cada contaminante foram testadas 3 concentrações com 3 réplicas cada uma, conforme desenho experimental da tabela 1. Na tabela 1, cada círculo corresponde a um vaso. O número inscrito em cada círculo refere o número de sementes de trigo semeadas. A aplicação do contaminante foi feita apenas uma vez no início da experiência.

Colocaram-se os recipientes próximo de uma janela onde todos tivessem expostos à mesma quantidade de luz natural. Só se regou quando o solo ficou seco à superfície.

Após a segunda semana observou-se a emergência das sementes nos controlos e nos tratamentos.

Mediu-se o crescimento das plantas com uma régua na terceira semana. A medição foi feita com as plantas na terra conforme figura 1.

Tabela 1: Desenho experimental do trabalho prático número 1

Controlo	Nº Gotas	Lixívia	Lixívia	Lixívia	Vinagre	Vinagre	Vinagre	Deterg.	Deterg.	Deterg.
2s	4 gotas	2s	2s	2s	2s	2s	2s	2s	2s	2s
2s	8 gotas	2s	2s	2s	2s	2s	2s	2s	2s	2s
2s	16 gotas	2s	2s	2s	2s	2s	2s	2s	2s	2s

### Dicas

Esta experiência foi testada com lixívia clorada pura, vinagre de vinho branco puro e com detergente de lavagem de roupa à máquina na concentração de uma colher de chá para 150ml de água.

Utilizou-se solo constituído por turfa e estrume de cavalo. Pode-se utilizar um solo normal para cultivo de plantas que se encontra à venda em qualquer estabelecimento comercial.

O número de sementes por recipiente depende da espécie de planta utilizada. No caso de aveia, trigo ou outras sementes pequenas podem-se colocar 5 a 10 sementes por cada recipiente com 15cm de diâmetro (OCDE, 208, pg.5/19). Para sementes maiores devem-se colocar apenas 1 ou 2 por cada recipiente de 15cm (OCDE, 208, pg.5/19). Se os recipientes forem maiores ou menores podem-se alterar as quantidades por recipiente. O tempo de germinação das diversas sementes é variável.

Podem ser utilizadas outras sementes tais como: *Lactuca sativa* (alface), *Cucumis sativa* (pepino), *Pisum sativum* (ervilha), *Lycopersicon esculentum* (tomate), *Avena sativa* (aveia) e *Zea mays* (milho) (OCDE, 208, pg.6/19).

### Resultados obtidos

No final da segunda semana, observou-se a emergência das sementes (tabela 2) e verificou-se que, em relação ao controlo, todos os tratamentos inibiram a germinação das sementes (gráfico 1). Por outro lado, observou-se que a inibição da germinação aumentou com o aumento da concentração para os três contaminantes testados (gráfico 1). A medição do crescimento realizou-se na terceira semana, quando já todas as plantas possuíam 1 folha verdadeira (tabela 3). O crescimento na terceira semana permitiu observar que as plantas dos controlos atingiram o maior comprimento médio (8,42cm) (gráfico 2). Os comprimentos médios observados nas plantas dos tratamentos com lixívia foram todos inferiores ao controlo e diminuíram com o aumento da concentração de lixívia (gráfico 2). Nos tratamentos com vinagre, os comprimentos das plantas foram todos inferiores aos medidos no controlo e diminuíram com o aumento da concentração do contaminante (gráfico 2). Nos tratamentos com detergente, os comprimentos foram todos inferiores ao controlo e aumentaram com o aumento

da concentração (gráfico 2). As observações desta experiência permitiram concluir que os poluentes afectaram a germinação e o crescimento das plantas. Não foram observadas pragas, no entanto as plantas tratadas com lixívia apresentaram no final da experiência alguma clorose (amarelecimento das folhas).

Tabela 2 – Número de plantas germinadas na 2ª semana

Controlo	Nº Gotas	Lixívia	Lixívia	Lixívia	Vinagre	Vinagre	Vinagre	Deterg.	Deterg.	Deterg.
2	4 gotas	1	2	1	2	1	1	2	2	1
2	8 gotas	1	1	1	1	1	2	1	1	2
2	16 gotas	1	1	1	1	2	1	1	1	1

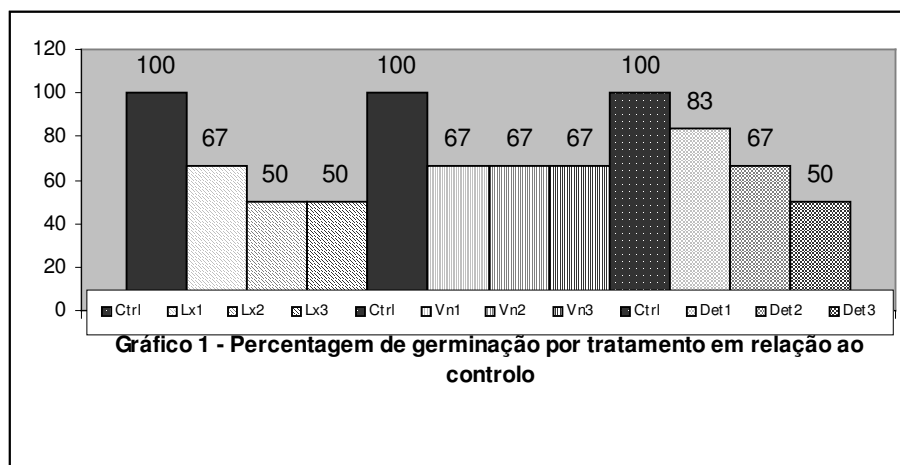


Tabela 3: Medições dos comprimentos das plantas na terceira semana

Controlo	Nº Gotas	Lixívia	Lixívia	Lixívia	Vinagre	Vinagre	Vinagre	Deterg.	Deterg.	Deterg.
8,5--8,5	4 gotas	7,5	7--7	7,5	8--7,5	8	8	7,5--7,5	7--7,5	7,5
8--8,5	8 gotas	7	6,5	6,5	7,5	8	7--8	7,5	8	8--7,5
8,5--8,5	16 gotas	6	6	6	7	7,5--7	7	8	8	8,5

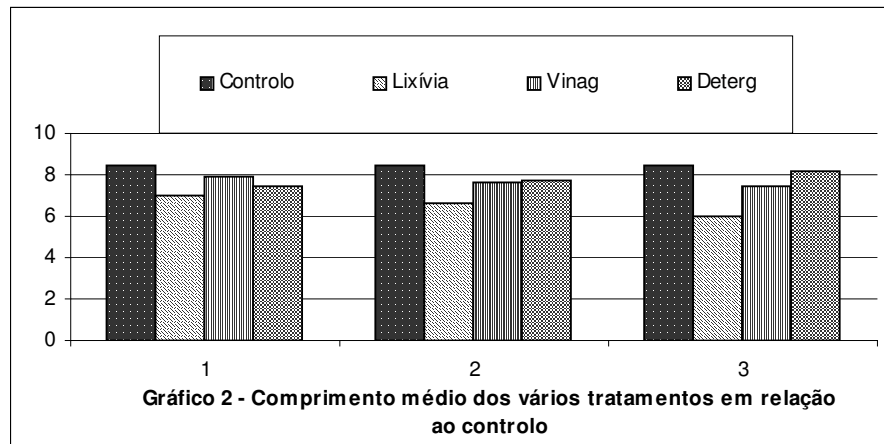


Fig. 1 Medição das plantas com régua no trabalho 1



Fig. 2 Aspecto da experiência 1

### Orientações para o professor:

Para explorar melhor os temas que se poderão abranger neste trabalho laboratorial, é conveniente durante uma pequena parte da aula (cerca de 30 minutos) antes da aula prática, levantar questões sobre os principais contaminantes libertados para o solo, sobre quais as actividades humanas produtoras desses contaminantes, quais os efeitos crónicos provocados nos ecossistemas e qual a importância do solo nos ecossistemas, para que os alunos formulem várias hipóteses em grupo. Isto permite que os grupos formados, que depois irão desenvolver o trabalho prático, discutam os temas propostos pelo professor. Além disso, esta interacção entre o grupo também permite uma melhor

articulação entre os elementos durante o trabalho prático, sendo também um elemento motivador para o tema.

É conveniente que todos os alunos estejam devidamente equipados para o trabalho prático com bata ou avental, luvas e óculos de protecção para a aplicação dos contaminantes no solo.

A preparação da experiência deverá demorar cerca de 40 minutos, mas depende da dimensão da turma e da forma como os grupos são orientados.

Na segunda semana após a sementeira, os alunos podem observar a emergência das plantas e devem anotar quantas emergiram e calcular as percentagens que essa emergência representa (gráfico1). É importante referir aos alunos a importância dos controlos como pontos de referência a adoptar na observação dos efeitos. É possível aproveitar esta aula para começar a estruturar o relatório final da experiência.

Na terceira semana já é possível medir os diversos comprimentos das plantas com uma régua (figura 1). Não é necessário retirar a planta da terra, basta colocar a régua na vertical com a planta, encostada ao solo, conforme se observa na figura 1, tendo o cuidado de retirar meio cm ao comprimento lido. Comparam-se os comprimentos das plantas medidos nos vários tratamentos com os comprimentos medidos nas plantas dos controlos. Caso os valores das medições ainda não permitam fazer distinções do crescimento nessa semana, podem-se fazer medições na semana seguinte. A comparação dos comprimentos dos controlos com os dos tratamentos permitirá aos alunos observar que os contaminantes produzem efeito negativo sobre o crescimento das plantas. Se for possível, os alunos poderão introduzir estes dados num programa de excel, produzindo gráficos sobre os efeitos dos contaminantes utilizados. Estes gráficos, permitirão uma visualização mais clara dos efeitos dos contaminantes. Pode-se também utilizar este trabalho prático para sensibilizar a comunidade local sobre a contaminação do solo e sobre a atitude correcta a tomar com a gestão dos resíduos e efluentes. Nesta fase prepara-se o relatório final. Este trabalho deverá ser concluído com uma abordagem sobre o facto do recurso solo não ser renovável a um ritmo tão acelerado quanto aquele com que é degradado pelos poluentes e a sua importância vital na manutenção da sustentabilidade da sociedade. Sugere-se a utilização de alguns textos existentes no manual de apoio “Um olhar sobre a poluição e degradação dos recursos”. É também possível confrontar os resultados obtidos com notícias existentes na comunicação social, fazendo a ligação com a realidade.

## **7.2 Trabalho número 2**

**Designação:** Avaliação dos efeitos potenciais nas plantas provocados pela deposição de contaminantes nas folhas.

### **Objectivo:**

Este trabalho pretende avaliar os efeitos dos contaminantes nas plantas, medindo o seu crescimento e avaliando outros efeitos adversos observáveis na parte aérea das plantas. A aplicação do contaminante na parte aérea das plantas

simula a deposição dos poluentes gasosos libertados no decorrer de algumas actividades Humanas industriais.

### **Temas explorados**

Através deste trabalho prático o professor pode introduzir os conceitos de Poluição atmosférica e efeito crónico. Quando for possível utilizar um contaminante de forma a provocar efeitos agudos (mortalidade das plantas) pode-se também abordar o conceito de efeito agudo. Neste trabalho proposto não foi possível observar o efeito de mortalidade, mas pode ser conseguido se aumentarmos a dose de contaminante ou alterarmos o tipo de contaminante. O efeito crónico poderá ser avaliado nas observações realizadas sobre a parte aérea das plantas sujeitas aos contaminantes em comparação com os seus controlos. O conceito de poluição atmosférica pode ser introduzido antes de abordar a valorização dos avanços científicos e tecnológicos na preservação da atmosfera, pois ao levantar questões sobre quais as soluções a adoptar para controlar as emissões para a atmosfera, os alunos podem argumentar e discutir no seio do grupo que tecnologias existem para evitar a contaminação atmosférica. Tal como os restantes trabalhos práticos, este também permite dinamizar acções de sensibilização junto da comunidade local, desencadeadas pelos alunos durante a realização do trabalho prático. É possível aproveitar os resultados deste trabalho para explorar questões sobre a identificação das actividades humanas que contribuem para a contaminação da atmosfera juntamente com notícias existentes nos meios de comunicação social.

Se houver oportunidade, pode-se aplicar os conhecimentos adquiridos ao estudo de casos reais existentes a nível local ou nacional. Pode ser possível articular este trabalho com visitas de estudo.

### **Descrição**

Este trabalho foi adaptado do protocolo da OCDE número 227 “Terrestrial plant test: vegetative vigour test” (OCDE, 2006). As principais alterações feitas ao protocolo foram a diminuição do número de sementes usadas, do número de réplicas por controlo e por concentração; alterou-se da forma de aplicação do poluente (usou-se um pincel e não um pulverizador), as condições ambientais do teste (temperatura, humidade, fotoperíodo); não foram utilizadas sementes padrão e o tipo de solo utilizado não obedeceu às condições padrão recomendadas no protocolo. O protocolo prevê uma aplicação única de contaminante em concentrações limite, o que não foi tido em conta neste trabalho, pois o contaminante foi aplicado uma vez por dia durante dois dias seguidos. Apenas se mediram os efeitos nefastos visíveis na parte superior das plantas, enquanto no protocolo são referidas as medições dos pesos das raízes e a avaliação dos efeitos adversos em diversas partes das plantas (OCDE, 227, 2006). De acordo com o estabelecido no protocolo 227 da OCDE, o teste decorre com uma aplicação única de contaminante e os efeitos são observados durante 21 a 28 dias. Está também previsto no protocolo conduzir este teste para várias

concentrações de poluente e assim determinar uma curva dose-resposta, no entanto, este método não foi adoptado para facilitar a experiência.

### **Os materiais utilizados nesta experiência foram:**

Sementes de *Triticum aestivum* (trigo) ou outras – ver em dicas do trabalho número 1.

Recipientes plásticos (6) (podem-se utilizar recipientes como fundos de garrafas de plástico ou outros recipientes que possam ser adaptados à experiência)

Contaminante (lixívia)

### **A experiência decorreu com a seguinte ordem:**

Colocou-se uma porção de solo suficiente para preencher cada um dos 6 recipientes necessários para a realização da experiência;

Semearam-se 2 sementes de *Triticum aestivum* (Trigo) em cada recipiente e regou-se cada recipiente com 50ml de água canalizada para consumo humano.

Após a emergência das sementes, que ocorreu na segunda semana, aplicou-se o contaminante (lixívia pura) com um pincel nas folhas das plantas durante 2 dias seguidos. Utilizou-se uma só concentração de teste nas três réplicas.

Separam-se 3 recipientes para servirem de controlo. Nestes não foram adicionados contaminantes. Destinaram-se apenas a testar se as sementes estavam em bom estado de conservação e para servir de comparação com as plantas que foram submetidas a tratamentos.

Só foi possível observar os efeitos produzidos na parte superior das plantas na terceira semana.

### **Resultados obtidos**

Na terceira semana observou-se um ligeiro amarelecimento nas folhas das plantas do tratamento com lixívia. Nas plantas dos controlos não se verificaram anomalias nem amarelecimento. Não foram observadas deformações nas folhas ou a existência de pragas. Os efeitos observados demonstram que a lixívia provoca efeitos crónicos nas plantas. Neste trabalho não podemos observar efeitos agudos pois não ocorreu a morte das plantas. No entanto, se aplicarmos o contaminante durante mais tempo (7 dias seguidos), ou se aplicarmos um contaminante que produza efeitos mais rápidos, podemos observar um efeito agudo (morte da planta). Não se aplicou o contaminante durante mais tempo porque isso levaria a que a duração da experiência não fosse compatível com o número de horas de cada ano lectivo reservadas para estas aulas.





Fig. 3 Aspecto da experiência



Fig. 4 Aplicação do contaminante com pincel

### Orientações para o professor:

Antes de iniciar o trabalho laboratorial é conveniente abordar quais as fontes e actividades humanas responsáveis pela poluição atmosférica e os seus impactos na saúde humana e no meio ambiente.

Todos os alunos devem estar devidamente equipados para o trabalho prático com bata ou avental, luvas e óculos de protecção durante a aplicação dos contaminantes nas plantas.

Posteriormente à realização do trabalho laboratorial proposto, deve-se promover a discussão entre os alunos sobre a valorização dos avanços científicos e tecnológicos na preservação da atmosfera, quais as soluções a adoptar para controlar as emissões. É possível conjugar os resultados observados com notícias encontradas na comunicação social sobre o tema poluição atmosférica. No manual de apoio existem alguns textos que permitem ajudar a abordar este tema da poluição atmosférica.

É possível articular este trabalho com visitas de estudo.

A observação de efeitos crónicos e agudos depende da escolha do poluente, da concentração utilizada e do tempo de exposição. De acordo com o protocolo da OCDE 227, pode-se começar com um teste de filtragem de concentrações para determinar a gama de concentrações a testar. Esta técnica pode-se também utilizar para escolher o contaminante que provoca efeitos mais visíveis. Além disso, existem determinados tipos de poluentes que pelas suas propriedades físico-químicas não penetram com facilidade nas folhas das plantas e não provocam nenhum efeito observável. Quando se pretende usar um poluente com propriedades hidrófobas pode-se usar um solvente capaz de se misturar com o poluente e de servir de veículo de aplicação e transporte nas folhas das plantas em estudo. No entanto, esta alteração de procedimento envolve a realização de um ensaio de exposição das plantas ao solvente utilizado (controlo com solvente).

Assim, despista-se a possibilidade de existir efeitos provocados pelo solvente e não pelo contaminante em si (OCDE, 2006).

### 7.3 Trabalho número 3

**Designação:** Efeitos no comportamento de organismos terrestres expostos a contaminantes

**Objectivo:**

Pretende-se testar o efeito de um contaminante no comportamento dos organismos expostos. O comportamento de evitamento é testado em organismos invertebrados terrestres (*Eisenia andrei*) quando expostos a contaminantes incorporados no solo.

**Temas explorados**

A contaminação é um dos conceitos abrangidos neste teste. A contaminação pode ser entendida como a presença de uma substância estranha ao ecossistema em estudo que provoca algumas perturbações no mesmo (Hoffman, 2003). Os efeitos das substâncias testadas neste trabalho induzem um comportamento de evitamento. O comportamento de evitamento, no seio de um ecossistema contaminado, pode provocar alterações nesse ecossistema. Isto pode acontecer porque mesmo não eliminando os organismos ou provocando danos fisiológicos, a presença do contaminante altera o seu comportamento “normal” e isso afecta as relações com outros organismos. O conceito de toxicidade relaciona um determinado efeito com uma determinada concentração de contaminante. Neste trabalho não foram testadas concentrações diferentes, apenas poluentes diferentes, mas pode ser adaptado quando se pretender abordar o conceito de toxicidade. A adaptação consiste em aplicar concentrações diferentes do mesmo poluente e observar o comportamento de evitamento. Desta forma seria possível relacionar o comportamento com a concentração de contaminante em estudo. No entanto, o teste tal como está permite seleccionar os poluentes que eventualmente provocariam outros tipos de efeitos (crónicos ou agudos).

Este trabalho pode ser articulado com uma visita de estudo a um aterro sanitário a fim de criar nos alunos uma noção prática da importância do confinamento adequado destas infra-estruturas utilizadas no tratamento de resíduos. As visitas de estudo são importantes, no entanto, se não forem apoiadas com trabalhos laboratoriais correm o risco de não se explorar todo o seu potencial educativo. As visitas de estudo apenas permitem aos alunos observar e formular questões, mas quando são complementadas com um trabalho de laboratório, consegue-se que os alunos tenham outra percepção da problemática observada e levantada durante a visita. Durante a discussão do trabalho prático o professor deverá conseguir explorar a ligação da ciência Ecotoxicologia que

permite estudar efeito dos contaminantes nos organismos terrestres, com a tecnologia associada ao tratamento de resíduos com as atitudes que a sociedade deve tomar para gerir o recurso natural solo. Tal como os restantes trabalhos pode ser utilizado para produzir material de sensibilização da comunidade local para o problema da poluição dos ecossistemas terrestres. Ao nível de conceitos teóricos podem-se abordar os conceitos de aterro sanitário e de compostagem. Além disso pode-se conjugar este trabalho de laboratório com a realização de uma compostagem, utilizando o composto formado para testar a sua “biodegradabilidade” através da não observação do comportamento de evitamento dos organismos de teste.

### **Descrição**

Este trabalho foi adaptado do protocolo da OCDE número 207 “*Eisenia fetida* – teste de contacto” de 1994, (OCDE, 1994).

Existem vários métodos de teste da toxicidade dos contaminantes nos organismos terrestres, incluindo aplicação tópica, alimentação contaminada e testes de imersão (OCDE, 1994). Neste protocolo são definidos dois tipos de teste: o teste de toxicidade por contacto com papel de filtro e o teste de contacto com o solo contaminado. O teste com solo dá resultados de toxicidade mais representativos da exposição natural dos organismos terrestres aos contaminantes (OCDE, 1994). A duração do teste, segundo o protocolo, é de 7 a 14 dias, sendo avaliada mortalidade ao sétimo e ao décimoquarto dia. O teste decorre a uma temperatura entre 20º e 22ºC na presença de luz em contínuo (OCDE, 1994). Os organismos de teste usados foram *Eisenia andrei* adultos, conforme o protocolo original.

No trabalho proposto, avalia-se o comportamento de evitamento dos organismos quando expostos a vários contaminantes. Escolheu-se o comportamento de evitamento, para medir a resposta de exposição aos contaminantes, por ser mais visível para os alunos e talvez mais interessante do que o efeito mortalidade. Por outro lado não foram testadas várias concentrações dos contaminantes porque o objectivo é identificar vários contaminantes produzidos pelas actividades humanas que são responsáveis pela degradação dos recursos naturais. Utilizaram-se organismos da espécie *Eisenia andrei* porque não existiam outros disponíveis na altura do teste.

### **Os materiais a utilizar nesta experiência são:**

Invertebrados terrestres como *Eisenia andrei* ou *Eisenia fetida*.

Recipientes plásticos (3) (podem-se reutilizar recipientes plásticos de comida)

Contaminantes sugestão: (vinagre, lixívia, detergente roupa)

Solo natural

### **A experiência decorreu com a seguinte ordem:**

Prepararam-se as soluções dos poluentes a testar, neste caso utilizaram-se lixívia pura, vinagre de vinho branco puro e uma solução de detergente de máquina para a roupa na proporção de uma colher de chá para 150ml de água.

Mediu-se a quantidade de solo suficiente para encher os três recipientes de teste;

Homogeneizou-se bem o solo e adicionou-se água para que ele ficasse húmido o suficiente para permitir a deslocação fácil dos organismos de teste; Não deve ficar demasiado ensopado (fig. 6);

Dividiu-se o solo em seis porções iguais. Três dessas porções serviram de controlos e nas três porções restantes adicionou-se 25ml de cada um dos contaminantes (lixívia, vinagre e solução de detergente) (fig.7);

Nas três porções destinadas aos controlos, adicionou-se um volume de água da torneira equivalente ao volume dos contaminantes adicionados a cada porção de solo (25 ml);

Em cada recipiente colocou-se uma parte com solo contaminado com um dos contaminantes e outra parte com solo sem contaminante, deixando um espaço ao centro (fig. 9);

Transferiram-se os organismos para os recipientes de teste, colocando 10 minhocas *Eisenia andrei* no centro de cada recipiente e deixaram-se migrar para o solo.

Colocaram-se os recipientes a uma temperatura de cerca de 20°C durante 48h e com um período de escuro durante a noite.

Após as 48h observou-se o comportamento dos organismos.

### **Dicas**

Alguns organismos de teste como a *Eisenia fetida* podem ser facilmente criados em vários extractos animais. O meio de cultivo mais usado é constituído por uma mistura 50:50 de estrume de cavalo/vaca e turfa (OCDE, 1994). O pH deve estar próximo de 7.0 e a temperatura cerca de 20°C (OCDE, 1994). É importante que o meio não contenha excesso de urina ou amónia (OCDE, 1994). Os recipientes de cultivo podem ser de plástico ou madeira com dimensões 50x50x15cm e com tampas justas (OCDE, 1994). Os meios de cultura suportam 1 kg de organismos por cada 20 kg de meio (OCDE, 1994). Cada organismo pesa em média 1g. A cultura pode-se iniciar com cocos que levam 3 a 4 semanas a eclodir e 7 a 8 semanas para se tornarem adultos (OCDE, 1994). As soluções dos poluentes devem ser bastante diluídas de forma a evitar a morte dos organismos.

## Resultados obtidos

A contagem dos organismos faz-se retirando cuidadosamente a porção de solo de controlo (não contaminado) para um tabuleiro ou outro recipiente (de preferência branco), abrir o solo com as mãos e escolher os organismos, contando-os (É conveniente usar luvas durante todo o processo). Depois procede-se da mesma forma para a parte contaminada do teste. Deve-se fazer a comparação entre o número de organismos que evitaram e o seu controlo respectivo.

Ao fim de 48 horas observou-se que todos os organismos evitaram os poluentes lixívia e vinagre e que 50% deles evitaram o detergente. O efeito de evitamento foi mais acentuado para o vinagre e para a lixívia. Podemos inferir que os organismos evitaram os contaminantes aos quais seriam mais sensíveis. Com este resultado poderemos mostrar aos alunos que o efeito dos contaminantes nos organismos varia e que é diferente derramar um contaminante com cloro ou outro mais ácido ou até um simples detergente.



Fig. 5 Solo não contaminado



Fig. 6 Preparação do solo



Fig. 7 Aplicação do contaminante



Fig. 9 Aspecto final



Fig. 8 Experiência antes de introdução dos organismos

### Orientações para o professor:

Ao nível de conceitos teóricos podem-se abordar os conceitos de aterro sanitário e de compostagem. Se a utilização destas tecnologias de tratamento de resíduos não for adequada poderemos provocar comportamentos de evitamento nos organismos e assim alterar os ecossistemas com todos os problemas que isso possa implicar na sustentabilidade dos recursos.

Este trabalho pode ser articulado com uma visita de estudo a aterro sanitário a fim de criar nos alunos uma noção prática da importância do confinamento adequado destas infra-estruturas utilizadas no tratamento de resíduos. Durante a discussão do trabalho prático o professor deverá conseguir explorar a ligação da ciência ecotoxicologia que permite estudar efeito dos contaminantes nos vermes, com a tecnologia associada ao tratamento de resíduos com as atitudes que a sociedade deve tomar para gerir o recurso natural solo. Tal como os restantes trabalhos pode ser utilizado para produzir material de sensibilização da comunidade local para o problema da poluição dos ecossistemas terrestres.

## 7.4 Trabalho número 4

**Designação:** Observação dos efeitos dos poluentes na água através do estudo dos Índices bióticos de macroinvertebrados

### Objectivo:

Ao medir os efeitos da poluição nas populações de macroinvertebrados de um curso de água podem-se avaliar os efeitos potenciais dos contaminantes. Para tal, utilizam-se os índices bióticos, os quais são frequentemente usados na monitorização biológica da qualidade da água. Este trabalho demonstra a aplicação de estudos de biomonitorização utilizados em Ecotoxicologia.

## **Temas explorados**

Permite abordar os conceitos de contaminante , de ETAR (estação de tratamento de águas residuais), de carência bioquímica de oxigénio (CBO). Este trabalho pode ser usado como complemento de visita de estudo a uma ETAR, na medida em que se os efluentes forem tratados não vão afectar os indicadores biológicos. Paralelamente pode-se fazer a medição de CBO (carência bioquímica de oxigénio) com sensores, o que permite aos alunos entender que as informações obtidas pela utilização dos medidores de oxigénio podem ser complementadas e confirmadas pela utilização de indicadores biológicos. O professor pode ainda apresentar o conceito de biomonitorização. É possível fazer várias amostragens de macroinvertebrados ao longo do ano e em vários pontos ao longo de um ou vários cursos de água, gerando conjuntos de dados que serão interessantes para avaliar a evolução e os percursos de alguns contaminantes nos ecossistemas. Pode-se explorar também o conceito de efeito crónico. É possível avaliar efeitos crónicos da exposição dos organismos aos contaminantes durante vários anos e verificar como evoluem as populações em relação às concentrações de contaminantes num determinado curso de água.

## **Descrição**

Este trabalho foi adaptado de aulas práticas realizadas no âmbito da disciplina de “biodiversidade e conservação” do departamento de Biologia da Universidade de Aveiro e do trabalho de (Perry, J. B., 2005).

## **Os materiais a utilizar nesta experiência são:**

Rede de mão com malha fina.

Sacos plásticos

Pinças

Tabuleiros brancos

Lupa

Chaves de identificação de invertebrados (McCafferty, W. P., 1998), (Pennak, R. W., 2001), (Voshell, J. R., Jr., 2002)

## **A experiência decorreu com a seguinte ordem:**

Recolheram-se amostras de macroinvertebrados em dois pontos de um curso de água situado na serra da Lousã. O primeiro ponto situava-se num local livre de focos de poluição. O segundo ponto encontrava-se numa zona com elevada actividade agrícola. A recolha foi feita com redes finas de mão de modo a recolher o maior número de espécies possível. A técnica usada consistiu em colocar a rede junto ao fundo do curso de água de modo a recolher os organismos que iam sendo levantados pela agitação do fundo com os pés. A

recolha deve ser feita em cursos de água não muito profundos (30 a 50 cm) e com pouca corrente. Os conteúdos recolhidos foram colocados em sacos plásticos transparentes e devidamente etiquetados com a indicação dos locais. Nesta fase podem-se também recolher outros elementos relativos à vegetação existente, aos focos de poluição, às actividades exercidas no local ou na proximidade, entre outros que ajudem a interpretar os resultados.

No laboratório, colocaram-se as amostras recolhidas em tabuleiros plásticos brancos para ser mais fácil a separação e identificação dos macroinvertebrados capturados.

Classificaram-se e contaram-se todos os organismos encontrados com o auxílio de chaves para identificação de macroinvertebrados e de uma lupa quando necessário.

Construiu-se uma tabela para cada local com os seguintes campos: ordem, família e número de organismos encontrados. Para o local não poluído construiu-se a tabela 4. Para o local poluído construiu-se a tabela 4a.

### **Dicas**

Para avaliar melhor se existe poluição no curso de água devem-se fazer pelo menos duas recolhas de macroinvertebrados ao longo desse curso de água. Uma recolha próxima da nascente onde não se suspeite da existência de poluição e outra num ponto mais a jusante (idealmente junto à foz). A amostra recolhida junto à nascente é utilizada como controlo e serve para identificar os efeitos provocados pela contaminação do curso de água.

### **Resultados obtidos**

A partir dos organismos recolhidos, calculou-se o índice de riqueza EPT (tabela 4). Este índice consiste no número total de espécies da ordem dos Ephemeroptera, dos Plecoptera e dos Tricoptera (EPT) encontrados numa amostra total de 100 organismos. Os organismos destas ordens são considerados muito sensíveis à poluição e portanto são indicadores de boa qualidade ecológica da água. Portanto, quanto maior o número, melhor é a qualidade da água. O valor máximo é de 39 famílias das 3 ordens. Na experiência realizada encontraram-se 12 famílias das ordens (EPT) numa amostra de 190 organismos, portanto numa amostra de 100 organismos encontramos 7, 06 famílias. Se observarmos a Figura 26 o podemos determinar que a qualidade da água é melhor do que no ponto seguinte. Segundo a figura 26, a contaminação causou apenas um ligeiro impacto na qualidade da água. No entanto, este índice é susceptível à variação sazonal da reprodução dos organismos envolvidos. Assim, a época do ano e a região onde se insere o curso de água podem introduzir variações neste índice. Para consolidar melhor o resultado da qualidade ecológica da água, calculou-se o índice biótico de Hilsenhoff. Em 1988, Hilsenhoff determinou valores de tolerância da poluição de algumas famílias de macroinvertebrados (Tabela 8 em anexo) que serviriam como indicadores da qualidade ecológica da água. Para determinar o índice biótico de Hilsenhoff, multiplicou-se o valor de tolerância de Hilsenhoff pelo



número de organismos de cada família das ordens EPT. Depois, dividiu-se o somatório desse produto pelo somatório do número de organismos das famílias EPT. O valor obtido para este índice (3,48) mostra que a qualidade ecológica da água é excelente, não possuindo indícios da presença de contaminação orgânica, de acordo com a Tabela 9 em anexo.

Para as amostras recolhidas no ponto mais poluído do curso de água, calculou-se um EPT de 5,23, o que denuncia uma pior qualidade da água. De acordo com a escala de avaliação apresentada na Figura 13a, considera-se que a poluição causou um impacto moderado na qualidade da água. Determinou-se também um índice de Hilsenhoff de 4,80, que indica uma qualidade inferior com possibilidade da existência de alguma poluição orgânica (tabela 9).

**Tabela 4 : Organismos recolhidos num curso de água na Serra da Lousã, 2007**

Ordem	Família	Nº de organismos recolhidos	Valor de tolerância de Hilsenhoff	Produto das colunas anteriores
Ephemeroptera	Heptageniidae	69	4	276
	Baetidae	25	4	100
	Siphonuridae	14	7	98
	Leptophlebiidae	49	2	98
Plecoptera	Pteronarcyidae	3	0	0
	Nemouridae	1	2	2
	Leuctridae	1	0	0
	Chloroperlidae	2	0	0
	Perlidae	1	1	1
	Perlodidae	1	2	2
	Capniidae	1	1	1
Trichoptera	Hydropsychidae	3	4	12
<b>Total</b>		<b>170</b>		<b>590</b>

**Índice Biótico de Hilsenhoff** =  $590 / 170 = 3,47$

**Índice de riqueza EPT** = (Soma do nº de famílias das ordens (Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera) x 100) / nº total de organismos recolhidos destas famílias.

$$= 12 \times 100 / 170$$

$$= 7,06$$

**Tabela 4a : Organismos recolhidos num curso de água na Serra da Lousã, 2007**

Ordem	Família	Nº de organismos recolhidos	Valor de tolerância de Hilsenhoff	Produto das colunas anteriores
Ephemeroptera	Heptageniidae	54	4	216
	Baetidae	25	4	100
	Siphonuridae	30	7	210
	Caenidae	49	7	343
Plecoptera	Pteronarcyidae	8	0	0
	Nemouridae	5	2	10
	Perlidae	3	1	3
	Perlodidae	9	2	18
	Capniidae	5	1	5
Trichoptera	Hydropsychidae	3	4	12
<b>Total</b>		<b>191</b>		<b>917</b>

**Índice Biótico de Hilsenhoff** =  $917 / 191 = 4,80$

**Índice de riqueza EPT** = (Soma do nº de famílias das ordens (Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera) x 100) / nº total de organismos recolhidos destas famílias.

$$= 10 \times 100 / 191$$

$$= 5,23$$



Fig. 10 – Captura de macroinvertebrados num curso de água



Fig.11 – Embalamento e transporte dos macroinvertebrados para o laboratório



Fig. 12 – Separação dos macroinvertebrados em laboratório

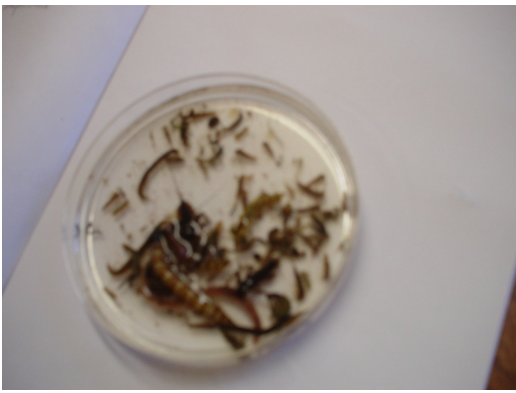


Fig. 13 – Identificação dos macroinvertebrados

### **Orientações para o professor:**

“Os rios, sem dúvida, contam histórias, especialmente sobre as actividades humanas que decorrem ao longo do seu curso”, (Perry, J.B., 2005).

Existem vários ensaios para determinar a qualidade da água. No entanto, a análise através da utilização das comunidades de macroinvertebrados bênticos dá-nos uma indicação das condições da qualidade da água no passado e no presente, o que não é possível com a monitorização física e química (Perry, J.B., 2005). Os macroinvertebrados bênticos tendem a ser relativamente sedentários e têm tempos de vida na fase larvar relativamente longos (Perry, J.B., 2005). Além disso, estão continuamente expostos às condições de um determinado curso de água. Assim, foi determinada por Hilsenhoff, a tolerância à poluição de algumas famílias destes organismos, fazendo com que sejam indicadores ideais da qualidade da água. Em geral, a existência de uma grande proporção de famílias intolerantes à poluição indicam uma boa qualidade da água (Perry, J.B., 2005).

Este trabalho tem duas componentes, uma de campo e outra de laboratório. A preparação deste trabalho requer algum tempo, no entanto, o resultado em termos de aprendizagem é muito rico. É importante disponibilizar chaves para identificação dos macroinvertebrados ver referências no ponto – materiais a usar nesta experiência). Antes de realizar o trabalho de identificação, deve-se ensinar aos alunos como ler as respectivas chaves.

## 7.5 Trabalho número 5

**Designação:** Teste agudo de imobilização com organismos aquáticos expostos a três contaminantes diferentes.

### **Objectivo:**

Testar o efeito agudo de imobilidade em *Daphnia magna* para quatro contaminantes diferentes. Este teste é uma das ferramentas da Ecotoxicologia para avaliar efeitos agudos dos poluentes em organismos aquáticos.

### **Temas explorados**

A dáfnia é um organismo aquático muito utilizado em testes de toxicidade. A maioria dos protocolos europeus e internacionais utilizam este organismo. Trata-se de um organismo sensível à maioria dos contaminantes, tem um modo de reprodução assexual por partenogénese, é fácil de cultivar em laboratório, tem dimensões reduzidas, tem um ciclo de vida curto, reproduz-se em quantidades elevadas e pertence a um grupo ecológico representativo (herbívoro, filtrador passivo) (Koivisto, S., 1995); Concretamente, a espécie *Daphnia magna* é uma espécie de zooplâncton que habita lagos de águas calmas em várias regiões do planeta (Koivisto, S., 1995). A sua posição na cadeia alimentar é muito útil do ponto de vista da Ecotoxicologia, pois faz a ligação entre os produtores aquáticos e os consumidores primários, i.e., alimenta-se de algas que crescem em ecossistemas aquáticos e serve de alimento a peixes que habitam esses ecossistemas (Koivisto, S., 1995).

Os conceitos associados a este trabalho prático são dose-letal e efeitos agudos. O efeito agudo medido neste trabalho é a imobilidade que representa a morte dos organismos expostos. A dose que provoca o efeito mortalidade designa-se dose letal ou concentração letal. A dose letal/concentração letal pode ser determinada para uma certa percentagem (x) da população de teste e representa-se por  $D_x/CL_x$ . A  $DL_x/CL_x$  representa a dose/concentração que provoca a morte de x% da população do teste.

## Descrição

Este trabalho foi adaptado do protocolo da OCDE número 202 “Teste agudo de Imobilização” de 2004. O protocolo original utiliza dáfrias juvenis da espécie (*Daphnia magna*) com menos de 24h para testar efeitos agudos (imobilidade) provocados por contaminantes durante 48h; A imobilização é registada ao fim de 24h e ao fim de 48h de exposição e comparada com os controlos (OCDE, 2004). As adaptações realizadas a este protocolo para produzir esta proposta de trabalho consistiram na alteração do meio de teste, na alteração do número de organismos utilizado por réplica, no número de controlos utilizados e usaram-se menos concentrações de teste do que o recomendado no protocolo. Utilizou-se água mineral engarrafada com pH = 7,14 em vez de um meio preparado de acordo com o procedimento padrão. O número de organismos utilizado por réplica foi menor (3 organismos) do que o estabelecido no protocolo (5 organismos). Foram utilizados organismos de teste (*Daphnia magna*) com menos de 24h de vida. Testaram-se quatro contaminantes com quatro concentrações cada um e três réplicas por concentração. Devido à falta de organismos de teste, utilizou-se apenas um controlo com quatro réplicas (tabela 5). Para que a experiência fosse mais simples de realizar em contexto escolar, utilizaram-se menos organismos e menos concentrações do que o estabelecido no protocolo OCDE 202. Os organismos não foram alimentados durante o teste, conforme protocolo.

### Os materiais a utilizar nesta experiência são:

Recipientes transparentes (36 recipientes) (Podem-se utilizar pequenos boiões de vidro, copos de plástico pequenos (ex. para café) ou outros recipientes que sirvam para o efeito)

Dáfrias juvenis com menos de 24h (*Daphnia magna* ou *D. longispina*) (108 organismos)

Os contaminantes sugeridos são Lixívia clorada, vinagre, vinagre de vinho branco  
Água mineral engarrafada com pH próximo de 7,13.

### A experiência decorreu com a seguinte ordem:

Recolheram-se dáfrias (*Daphnia magna*) de um laboratório de ensaios ecotoxicológicos (U.A., 2009) num total de 108 organismos; São necessárias três dáfrias por recipiente;

Mediram-se 50ml de água para cada recipiente, no total 36 recipientes;

Rotularam-se os recipientes para os poluentes lixívia, vinagre, detergente, e para o controlo. Testaram-se quatro concentrações para cada contaminante e para cada concentração utilizaram-se três réplicas (Tabela 5). Utilizou-se apenas um controlo com quatro réplicas.

Adicionaram-se as diversas concentrações dos poluentes aos recipientes.

Colocaram-se três dáfrias em cada recipiente e deixaram-se durante 48h sem alimento (Fig. 14).

Observou-se a imobilidade dos organismos nos recipientes após 48h de exposição, anotando quantos se moveram e quantos estavam imóveis em cada recipiente. Compararam-se os resultados com o controlo.

### Dicas

Os organismos devem ser recolhidos no dia em que se iniciam os testes (OCDE, 2004). Deve-se ter cuidado na manipulação destes organismos pois são muito sensíveis. Devem-se manipular com a ajuda de uma pipeta de pasteur de plástico ou então com um contagotas tendo o cuidado de verificar se a ponta tem diâmetro suficiente para aspirar as dáfrias sem as ferir. O pH da água utilizada foi 7,13, devendo sempre ser usada água com um pH idêntico para que os organismos não morram. Um outro contaminante com efeitos semelhantes à lixívia é o peróxido de hidrogénio (água oxigenada a 10 vol).

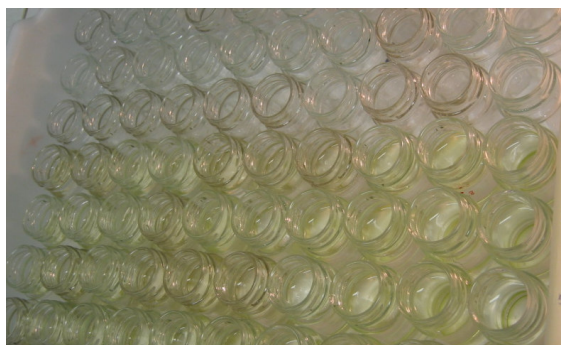


Fig. 14 - Aspecto geral do trabalho prático número 5

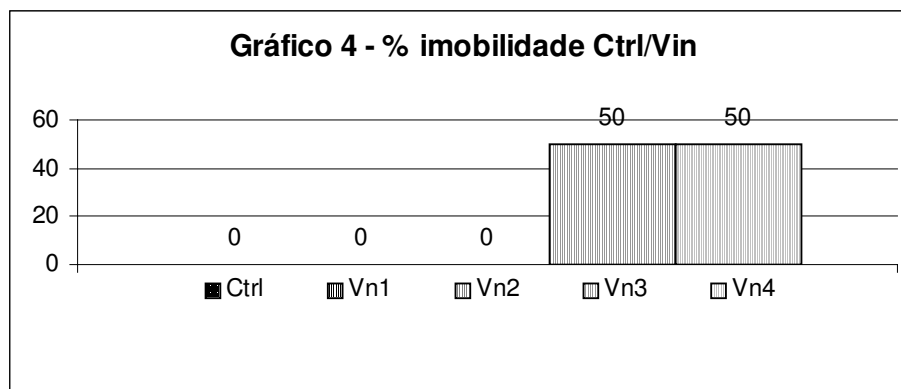
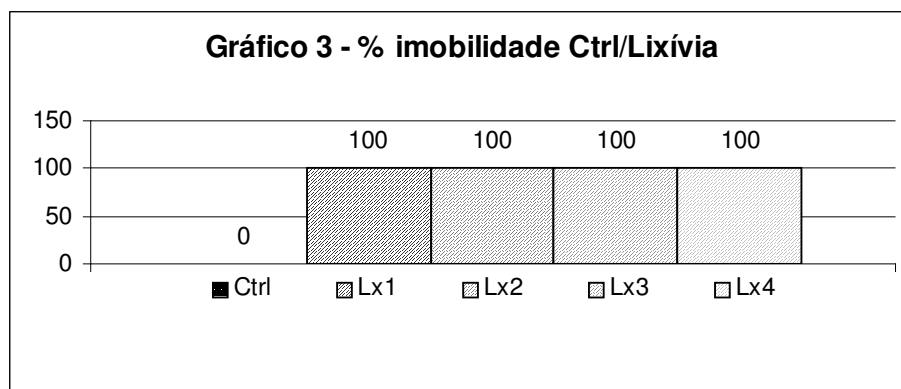
Tabela 5 : Desenho do trabalho número 5

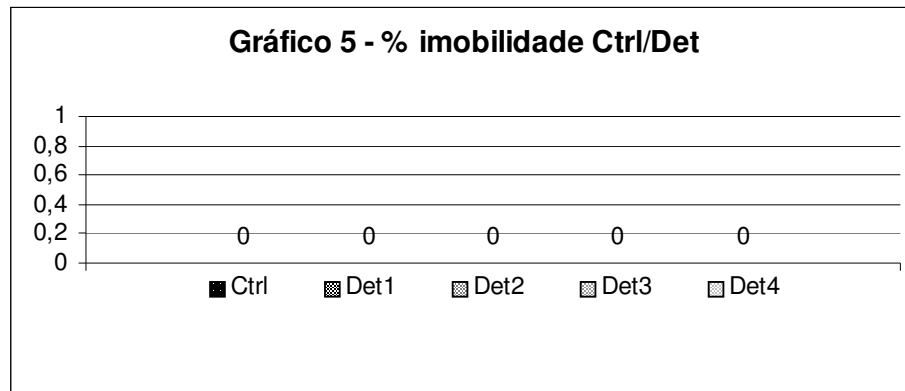
Réplicas []	Lx1	Lx2	Lx3	Vn1	Vn2	Vn3	Det1	Det2	Det3
[] 1	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.
[] 2	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.
[] 3	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.
[] 4	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.	3 dáf.

## Resultados obtidos

Registou-se imobilidade em 100% das dáfnias expostas a todas as concentrações do poluente lixívia relativamente ao controlo (gráfico 3).

O vinagre provocou imobilidade em 50% das dáfnias para as concentrações 3 e 4 e não provocou imobilidade nas dáfnias para as concentrações 1 e 2 (gráfico 4). O detergente não provocou qualquer imobilidade para as 4 concentrações testadas (gráfico 5). Podemos concluir que alguns poluentes afectam os organismos mesmo em concentrações muito baixas, como é o caso da lixívia.





### Orientações para o professor:

Este trabalho envolve bastante esforço na sua preparação. É necessário escolher bem os tóxicos que se vão utilizar e relacioná-los com os poluentes mais vulgarmente libertados no meio ambiente. Por exemplo, o vinagre pode ser relacionado com as chuvas ácidas ou efluentes ácidos de alguns tipos de fábricas. Os detergentes podem estar ligados aos efluentes que contêm fosfatos e outros contaminantes que promovem o processo de eutrofização. Também a lixívia pode ser relacionada com as descargas de efluentes alcalinos.

## 7.6 Trabalho número 6

**Designação:** Bioacumulação de poluentes em organismos aquáticos

### Objectivo:

Pretende-se demonstrar o efeito de bioacumulação dos poluentes lipossolúveis nos organismos aquáticos.

### Temas explorados

Com este trabalho prático pode-se demonstrar os conceitos de bioampliação, bioacumulação e bioconcentração.

Bioacumulação e bioconcentração são termos que descrevem a transferência dos contaminantes do ambiente externo para dentro do organismo (Hoffman, 2003). Nos organismos aquáticos, a bioacumulação pode ocorrer pela exposição aos sedimentos contaminados ou pela cadeia alimentar (processo designado por transferência trófica) (Hoffman, 2003). A bioamplificação define-se como sendo o aumento da concentração dos contaminantes no organismo para



além da bioconcentração (Hoffman, 2003). A bioamplificação é mais significativa nas cadeias alimentares bêmicas e para contaminantes muito hidrofóbicos resistentes à biotransformação e biodegradação (Hoffman, 2003). A bioconcentração é a acumulação dos contaminantes nos organismos pelas vias de exposição não alimentar (Hoffman, 2003). Uma substância química pode existir em concentrações muito baixas para causar efeitos adversos nos organismos, no entanto se ela for bioacumulável, e os organismos não a conseguem excretar, então pode representar um risco mais elevado no ambiente (Clement et al, 1997). Quando estes organismos são ingeridos por outros em níveis tróficos mais elevados o contaminante é transferido para os níveis mais elevados em doses mais elevadas (Clement et al, 1997). Uma substância química tem maior probabilidade de se bioacumular quanto menos hidrossolúvel for (Clement et al, 1997). Se não é solúvel em água, provavelmente é solúvel em gordura, logo pode-se acumular nos tecidos dos organismos e bioconcentrar-se (Clement et al, 1997).

Casos de contaminação de toda a cadeia alimentar, como os de Minamata e outros, poderão ser associados com este trabalho prático. A leitura e discussão dos relatos da comunicação social ou outros artigos científicos servem de base para o despertar de questões que poderão ser aplicadas durante a realização do trabalho prático.

Também é possível utilizar este trabalho para a promoção de actividades junto das comunidades locais.

### **Descrição**

Este trabalho foi adaptado de uma publicação da US EPA que refere um conjunto de trabalhos didáticos sobre biologia (Clement, J. et al., 1997).

Foram feitas algumas pequenas alterações ao documento original que incluíram a constituição dos químicos a utilizar. O trabalho consiste em demonstrar a bioconcentração de poluentes lipossolúveis em *Daphnia magna*. São preparados dois químicos, um lipossolúvel e outro hidrossolúvel. Depois são preparados dois copos constituídos por igual quantidade de água e de óleo. Estes copos simulam a constituição dos corpos das dáfnias que vivem no meio aquático. Aplica-se num copo o contaminante hidrossolúvel e no outro o contaminante lipossolúvel. O resultado desta etapa da experiência pretende demonstrar as propriedades de cada um dos contaminantes, o lipossolúvel vai-se dissolver na fase oleosa e o hidrossolúvel dissolve-se na fase aquosa. Depois retira-se de cada um dos copos a fase aquosa, o que pretende demonstrar que os contaminantes hidrossolúveis são mais facilmente excretáveis pelo organismo. No final desta fase, os alunos podem observar a fase oleosa colorida pelo contaminante lipossolúvel o que denota acumulação de contaminante no organismo. Por outro lado o copo onde colocaram o contaminante hidrossolúvel não apresenta qualquer colorido o que significa que o contaminante foi eliminado. Assim os alunos colam uma dáfnia no copo em que existe contaminante indicando que o contaminante se encontra dentro do organismo.

**Material necessário:**

Copos transparentes ou outros recipientes recicláveis;  
Folha A4 com dáfnias impressas ou já recortadas;  
Fita-cola;  
Óleo vegetal alimentar;  
Tinta base óleo vermelha ou outra cor;  
Corante natural ou guache (cor azul ou outra);  
Conta-gotas ou pipetas de Pasteur;  
Água da torneira;

**A experiência decorreu com a seguinte ordem:**Preparação prévia pelo professor:

Prepararam-se previamente os químicos A e B da seguinte forma:

10 ml de óleo + tinta base óleo      —————> Químico A mais perigoso mata com 3 gotas; Ver na fig.17.

10 ml de água + tinta guache      —————> Químico B menos perigoso mata com 6 gotas; Ver na fig. 17.



Fig. 17 – Químico B, à esquerda, e Químico A, à direita

Na aula:

2º Distribuíram-se 2 copos a cada grupo; um para o químico A, outro para o B;



Fig. 18 – Adição de água e óleo a ambos os copos

3º Adicionou-se ao copo 1 e 2: 2cm de água + 2cm de óleo de acordo com a fig.18;

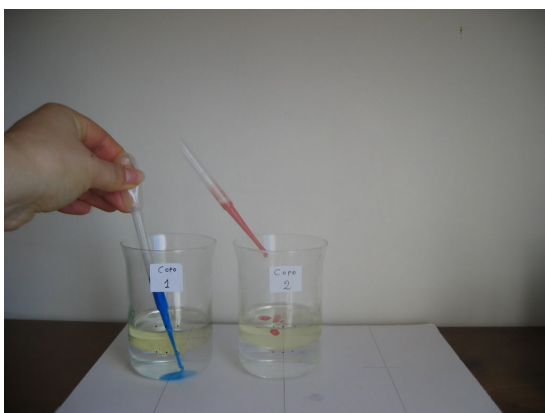


Fig. 19 – Adição de químico A ao copo 1 e de químico B ao copo 2

4º Adicionou-se um pouco de A ao copo 1 e adicionar um pouco de B ao copo 2; Ver fig. 19.



Fig. 20 – Aspecto dos copos depois da agitação dos químicos

5º Agitou-se ligeiramente até ficar com o aspecto da fig. 20;

6º Retirou-se a camada aquosa de cada copo, deixando a camada de óleo; Ver fig. 21.

7º Colocou-se no copo que continha poluente uma dáfnia; Ver fig. 22.

8º Adicionou-se 2 cm de água a cada copo 1 e 2; Ver fig. 22.

9º Adicionou-se mais um pouco de A ao copo 1 e de B ao copo 2 e agitou-se ligeiramente; Ver fig. 23.



Fig. 21 – Aspecto dos copos depois de se retirar a camada aquosa de cada copo;



Fig. 22 – O copo 2 recebe uma dáfnia porque está poluído; Ambos os copos recebem novamente 2cm de água.



Fig. 23 – Copos depois de novamente agitados após receberem mais uma porção de cada um dos químicos A e B.

10º Retirou-se a camada aquosa de cada copo, deixando a camada de óleo; Ver fig. 24.



Fig. 24 – Segunda remoção da camada aquosa dos copos

11º Colocou-se mais uma dáfnia no copo que contém poluente. Ver. fig. 25.



Fig. 25 – O copo 2 recebeu outra dáfnia porque contém poluente

### **Resultados obtidos:**

Verificou-se uma maior acumulação de poluente lipossolúvel do que do poluente hidrossolúvel, o que é representado pela aplicação de 2 dáfias no copo 2. Ver Fig. 25.

### **Orientações para o professor:**

No início da aula, os alunos são informados que o químico A é mais perigoso porque é lipossolúvel e são necessárias apenas 3 gotas para matar; o químico B é menos perigoso porque é hidrossolúvel e são necessárias 6 gotas para matar. Este trabalho exige uma boa preparação teórica sobre as propriedades das substâncias e a sua relação com o grau de toxicidade.

### **7.7. Onde procurar materiais para a realização das experiências**

Dado que os utilizadores destas experiências serão crianças menores, ainda que os professores as acompanhem sempre, os reagentes foram todos escolhidos de modo a comportarem o menor nível de risco possível. Além disso, podem ser adquiridos em qualquer supermercado ou drogaria.

Todos os organismos utilizados podem ser adquiridos em laboratórios de ecotoxicologia, nomeadamente em instituições como a Universidade de Aveiro/ laboratório do CESAM, Universidade Nova de Lisboa, CIIMAR/Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS).

Não é necessário cultivar os organismos se não existirem condições para tal porque é bastante fácil obter os organismos para o momento da realização dos trabalhos práticos. Existe um projecto promovido pelo CIIMAR/Faculdade de Ciências da Universidade do Porto que vende um kit de teste com dáfias e algumas substâncias de teste (nomeadamente álcool, cafeína e nicotina) que pode ser comprado por um preço razoável – Projecto DAPHNIA.

## 8. Conclusões gerais

Da análise às abordagens sobre ecotoxicologia existentes nos programas do ensino das ciências, e analisando a situação actual nas escolas, em termos de realização de trabalhos práticos, conclui-se que é possível implementar maior componente prática, apesar dos constrangimentos existentes em termos de meios materiais. Em termos de meios materiais a maioria das escolas possui entre outros meios (medidores de pH, estufa, microscópio, material de vidro graduado e bancadas de laboratório). Contudo, é necessário criar materiais didácticos de apoio, pois estes são pouco abundantes nos manuais e a realização de trabalhos práticos envolve um enorme esforço de preparação e organização fora das aulas.

Para além disso, verifica-se que o ministério da educação indica como literatura de referência e apoio, obras e sítios de internet internacionais, provavelmente devido à sua escassez ao nível nacional.

O conjunto de trabalhos práticos aqui apresentado limitou-se a experiências laboratoriais, no entanto, é possível alargar o seu âmbito a trabalhos de campo e outras actividades conducentes à consciencialização da população estudantil e da população em geral sobre os principais contaminantes ambientais e os respectivos riscos para a saúde humana e meio ambiente.

O conjunto dos trabalhos práticos propostos permite abordar conceitos como contaminação, poluição, poluente, efeito crónico (trabalho 1), efeito agudo e crónico (trabalho 2), toxicidade (trabalho 3), biomonitorização (trabalho 4), dose letal/concentração letal (trabalho 5), bioacumulação, bioamplificação e bioconcentração (trabalho 6). Todos estes conceitos fazem parte da ciência Ecotoxicologia e permitem lançar um olhar sobre a poluição e degradação dos recursos. Para além de fazerem parte da ciência Ecotoxicologia são conceitos abordados nos programas do ensino das ciências.

Desta forma é possível enfatizar a componente prática no ensino experimental das ciências em articulação com a ciência Ecotoxicologia e tecnologia.

De futuro, será importante ampliar este conjunto de trabalhos práticos e realizar a sua implementação nas escolas.

## 9. Referências

- AMPARO, D. S., GRAMAXO, F., MESQUITA, J., SANTOS, M. E., CRUZ, O., O homem na biosfera – 8º ano, Porto editora, 1989
- BODE, R. W., M. A. NOVAK, e ABELE, L. E. Quality Assurance Work Plan for Biological Stream Monitoring in New York State. Stream Biomonitoring Unit, Bureau of Monitoring and Assessment, Division of Water, NYS Department of Environmental Conservation, 1996
- CAIRNS, J. E MOUNT, D.L., Aquatic toxicology environment science, 1990
- CAIRNS, J., Ecological toxicity testing: scale, complexity and relevance, Lewis Publishers, 1995
- CALOW, P., Handbook of Ecotoxicology. Vol1, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1993
- CAMAÑO, A., Los trabajos prácticos en ciencias. In: Alexandre, M.P.G. et al. Enseñar Ciências, Editora Grao, Barcelona, pp. 95-118, 2003.
- CACHAPUZ, A. F. O ensino das Ciências para a excelência da aprendizagem. In:Carvalho, A. D., Novas Metodologias em Educação, Porto Editora, Porto, pp. 351-385, 1995.
- CACHAPUZ, A., PRAIA, J., JORGE, M., Perspectivas de Ensino das Ciências. In: CACHAPUZ, A. Perspectivas de Ensino – Formação de Professores – Ciências – Textos de apoio n.º 1. Centro de Estudos de Educação em Ciências, Porto, pp. 79, 2000a.
- CACHAPUZ, A., PRAIA, J., JORGE, M., CIÊNCIA, Educação em Ciência e Ensino das Ciências. Temas de Investigação, 26. Ministério da Educação, Lisboa, pp. 353, 2002.
- CACHAPUZ, A., PRAIA, J., JORGE, M., Reflexão em torno de perspectivas de ensino das ciências: contributos para uma nova orientação curricular – Ensino por Pesquisa. Revista de Educação, IX (1): pp. 69-78, 2000b.
- CANAVARRO, J. M., Ciência e Sociedade. Quarteto Editora, Coimbra, pp.228, 1999
- CLEMENT, J., SIGFORD, A., DRUMMOND, R., NOVY, N., World of freshwater, United States Environmental Protection Agency, Washington, 1997.
- ENCICLOPEDIA DE SEGURIDAD, 2001



- EPA (Environmental protection agency),
- FORBES, T. L. E FORBES, V. E., A critique of the use of distribution based models in ecotoxicology, *Functional Ecology*, 7:249-254, 1993
- FERNANDES, M.M. E SILVA, M.H.S., O trabalho experimental de investigação: das expectativas dos alunos às potencialidades no desenvolvimento de competências. *Revista ABRAPEC*, 4 (1): pp. 45-58, 2004.
- GALVÃO, C., NEVES, A., FREIRE, A.M., LOPES, A.M., MACEDO, G., NEVES, I., ENCARNÇÃO, L., MATOS, M., PINHO, M., PEREIRA, M., OLIVEIRA, M.T., Competências específicas das Ciências Físicas e Naturais. In: Abrantes P. (coord. geral). *Currículo Nacional do Ensino Básico – Competências Essenciais*. Departamento da Educação Básica – Ministério da Educação. Lisboa. pp. 124-146, 2001a.
- GIESY, J. P., ODUM, E. P., Microcosmology: introductory comments, in *Microcosmos in Ecological research*, Springfield, 1990
- GIL, D. E VILCHES, A., Una alfabetización científica para el siglo XXI - Obstáculos y Propuestas de actuación. *Investigación en la escuela*, 43: pp. 27-37, 2001.
- GIL, D. E VILCHES, A., Atenção ao futuro na educação para a cidadania – Possíveis obstáculos a superar para a sua incorporação no ensino das ciências. In: Martins, I.P., Paixão, F., Vieira, R. M. *Perspectivas Ciência – Tecnologia – Sociedade na Inovação da Educação em Ciência*. III Seminário Ibérico CTS no Ensino das Ciências. Universidade de Aveiro. pp. 99-108, 2004.
- HARRIS, H. J. ET AL, Ecosystem integrity, *environ. Science and technology*, 24:598-603, 1990
- HEINRICH, D. E HERGT, M., *Atlas zur Ökologie*, Verlag, 1990 in Rombke, 1993.
- HOFFMAN, D. J., RATTNER, B. A., HALL, R. J., *Wildlife Toxicology*, *Env. Science Techn.* 24: 276-283, 1990
- HOFFMAN, D. J., RATTNER, B. A., Burton, G. A. Jr, Cirns, J. Jr, *Handbook of Ecotoxicology*, Lewis Publishers, 2nd ed, 2003
- KOIVISTO, S., “Is *Daphnia magna* an ecologically representative zooplankton species in toxicity testes?”, Sweden, 1995
- LEITE, L., Contributos para uma utilização mais fundamentada do trabalho laboratorial no ensino das ciências. In: Caetano, H.V. e Santos, M.G.

- Cadernos Didáticos de Ciências, Vol. 1. Departamento do Ensino Secundário – Ministério da Educação, Lisboa, pp. 79-97, 2001
- LEVIN, S. A., Harwell M.A., Kelly J.R., Indicators of ecosystem response and recovery: problems and approaches, Springer-Verlag, pp.547, 1989
- MCCAFFERTY, W. PATRICK, “Aquatic Entomology: The Fishermen’s and Ecologists’ Illustrated Guide to Insects and Their Relatives.” Jones and Bartlett Publishers, Inc. Sudbury, 1998.
- MARTINS, I. P., O trabalho científico no ensino básico. Extraído do Relatório da disciplina de Didáctica das Ciências no Ensino Básico, apresentado para Provas de Agregação em Educação, Universidade de Aveiro, pp.19, 2003.
- MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO, WWW.MIN-EDU.PT, consultado em Janeiro de 2009
- MORIARTY, F., Ecotoxicology: the study of pollutants in ecosystems, Academic Press, 1993.
- OCDE 208 “Terrestrial Plant Test: Seeding Emergence and Growth test”, OCDE, 2003.
- OCDE 227 “Terrestrial plant test: vegetative vigour test”, OCDE, 2006.
- OCDE 201 “Freshwater Alga and Cyanobacteria, growth inhibition test”, OCDE, 2006
- OCDE 207 “*Eisenia fetida* – teste de contacto”, OCDE, 1994.
- PENNAK, R. W., “Freshwater Invertebrates of the United States,” 4<sup>th</sup> ed. John Wiley & Sons, Inc., 2001.
- PERRY, J.B., Pages 255-280, in Tested Studies for Laboratory Teaching, Volume 26 (M.A. O’Donnell, Editor). Proceedings of the 26<sup>th</sup> Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education (ABLE), 2004.
- REACH, Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals, EC no. 1907/2006 of the European Parliament
- RESH, V. H., M. J. MEYERS, M. J. HANNAFORD, “Macroinvertebrates as biotic indicators of environmental quality”, Academic Press, New York, 1996.
- ROBERTS, R., Using different types of practical within a problem-solving model of science. School Science Review, 85 (312): 113-119, 2004.
- ROMBKE, J. e MOLTSMANN, F. J., Applied Ecotoxicology, CRC Press, 1996

- SOARES, A.M.V., Textos de apoio nº1, Princípios de toxicologia , 2006b
- SOARES, A.M.V., Textos de apoio nº2, Princípios de toxicologia , 2006b
- SUTER, G. W., A critique of ecosystem health concepts and indexes, env. Tox. Chem. 12: 1533-1539, 1993
- TRUHAUT, R., Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives, Ecotoxicology environmental safety, 1, pp. 151-173, 1977
- UNIVERSIDADE DE AVEIRO, Laboratório de Ecotoxicologia do Departamento de Biologia, 2009
- VOSHELL, J. R., JR. "A Guide to Common Freshwater Invertebrates of North America." The McDonald & Woodward Publishing Company, 2002.
- WHO Comission on Health and Environment, Our Planet, our Health: Report of WHO Comission on Health and Environment, 1992

## 10. Anexos

Tabela 8: Descrição dos valores de tolerância de Hilsenhoff (Resh et al., 1996)

Classe	Família	Valor Tol.	Classe	Família	Valor Tol.	Classe	Família	Valor Tol.
Plecoptera	Capniidae	1	Trichoptera	Brachycentridae	1	Diptera	Empididae	6
	Chloroperlidae	1		Calamoceratidae	3		Ephydriidae	6
	Leuctridae	0		Glossosomatidae	0		Psychodidae	10
	Nemouridae	2		Helicopsychidae	3		Simuliidae	6
	Perlidae	1		Hydropsychidae	4		Muscidae	6
	Perlodidae	2		Hydroptilidae	4		Syrphidae	10
	Pteronarcyidae	0		Lepidostomatidae	1		Tabanidae	6
	Taeniopterygidae	2		Leptoceridae	4		Tipulidae	3
Ephemeroptera	Baetidae	4		Limnephilidae	4	Amphipoda	Gammaridae	4
	Baetiscidae	3		Molannidae	6		Talitridae	8
	Caenidae	7		Odontoceridae	0	Isopoda	Asellidae	8
	Ephemerellidae	1		Philpotamidae	3			
	Ephemeridae	4		Phryganeidae	4	Acariformes		4
	Heptageniidae	4		Polycentropodidae	6			
	Leptophlebiidae	2		Psychomyiidae	2	Decapoda		6
	Metretopodidae	2		Rhyacophilidae	0			
	Oligoneuridae	2	Megaloptera	Sericostomatidae	3	Mollusca	Lymnaeidae	6
	Polymitarcyidae	2		Uenoidae	3		Physidae	8
	Potomanthidae	4	Liptidoptera	Corydalidae	0		Sphaeridae	8
	Siphonuridae	7		Sialidae	4			
Odonata	Trichlorythidae	4	Copeptera	Pyrilidae	5	Oligochaeta		8
	Aeshnidae	3		Dryopidae	5	Hirudinea	Bdellidae	10
	Calopterygidae	5	Diptera	Elmidae	4	Turbellaria	Platyhelminthidae	4
	Coenagrionidae	9		Psephenidae	4			
	Cordulegastridae	3		Anthericidae	2			
	Corduliidae	5		Blepharoceridae	0			
	Gomphidae	1		Ceratopogonidae	6			
	Lestidae	9		Chironomidae vermelho	8			
	Libellulidae	9		Chironomidae outro	6			
	Macromiidae	3		Dolichopodidae	4			

Tabela 9: Valores de tolerância de Hilsenhoff adaptado de (Resh et al., 1996)

<b>Índice Biótico</b>	<b>Qualidade da água</b>	<b>Grau de poluição orgânica</b>
0 – 3,50	Excelente	Sem Poluição orgânica aparente
3,51 – 4,50	Muito Boa	Possibilidade de ligeira Poluição orgânica
4,51 – 5,50	Boa	Alguma Poluição orgânica
5,51 – 6,50	Razoável	Poluição orgânica pouco significativa
6,51 – 7,50	Pouco Razoável	Poluição orgânica significativa
7,51 – 8,50	Fraca	Poluição orgânica muito significativa
8,51 – 10,00	Muito Fraca	Poluição orgânica severa

### **Escolas do Concelho de Aveiro que receberam o Inquérito:**

Centro Educativo Dr. Alberto Souto  
 Colégio D. José I  
 Colégio Português (Ensigest) empreendimentos educativos  
 Escola Básica dos 2º e 3º ciclos – Castro Matoso  
 Escola Básica dos 2º e 3º ciclos – Aires Barbosa  
 Escola Básica dos 2º e 3º ciclos – Aradas  
 Escola Básica dos 2º e 3º ciclos – João Afonso  
 Escola Básica dos 2º e 3º ciclos – São Bernardo  
 Escola Básica integrada – Eixo  
 Estabelecimento de ensino de Santa Joana  
 Escola Secundária com 3º Ciclo do ensino Básico de José Estêvão  
 Escola Secundária com 3º Ciclo do ensino Básico de Dr. Mário Sacramento  
 Escola Secundária Homem de Cristo

**Figura 26** - Escala de avaliação de valores de índices biológicos (SPP – riqueza específica), (HBI – Índice biótico de Hilsenhoff), (EPT – Riqueza Ephemeroptera, Plechoptera e Trichoptera); Retirado de (Bode et al., 1996);

